

Aus der Abteilung für Experimentelle
Chirurgie und Pathologische Biochemie
(Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz)
an der Chirurgischen Universitätsklinik
Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Hamelmann)

DIE WIRKUNG VON (+)-CATECHIN
AUF DIE OXYDATIVE DESAMINIERUNG VON HISTAMIN
IN VIVO UND IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin im Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Annemarie Friedrich
aus Saarburg

Marburg/Lahn 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Experimentelle
Chirurgie und Pathologische Biochemie
(Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz)
an der Chirurgischen Universitätsklinik
Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Hamelmann)

Die Wirkung von (+)-Catechin
auf die oxydative Desaminierung von Histamin
in vivo und in vitro

Inaugural-Dissertation
zur

Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin im Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Annemarie Friedrich
aus Saarburg

Marburg/Lahn 1977



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität am

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. Neurath

Referent: Prof. Dr. med. Lorenz

Coreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Richter

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Chemie der Flavonoide	1
1.2. Wirkungen von Flavonoiden auf Enzyme	3
1.3. Wirkungen von Flavonoiden auf den Histaminstoffwechsel	4
1.4. Pathophysiologische Bedeutung der intestinalen Diaminoxydase	5
2. Ziel der Arbeit	7
3. Material und Methodik	9
3.1. Material	9
3.1.1. Gewinnung von Organmaterial	9
3.1.2. Herstellung angereicherter Enzympräparate	10
3.1.2.1. Herstellung des Rohextraktes	10
3.1.2.2. Gelfiltration an Sephadex G 50	10
3.1.2.3. Gelfiltration an Sephadex G 200	11
3.1.3. Reagentien und Pharmaka	13
3.1.3.1. für den Isotopentest	13
3.1.3.2. für den NADH-Test	14
3.1.3.3. für die Histaminbestimmung	14
3.1.3.4. Sonstige Reagentien	15
3.2. Methodik	15
3.2.1. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in Dünndarm und Plasma von Kaninchen	15
3.2.2. Standardmodell für den Verschluß der Arteria mesenterica superior und die Bestimmung der Überlebenszeit nach intestinaler Ischämie	16
3.2.3. Einfluß von (+)-Catechin auf Überlebenszeit und verschiedene biologische Parameter nach temporärem Verschluß der Arteria mesenterica superior	18

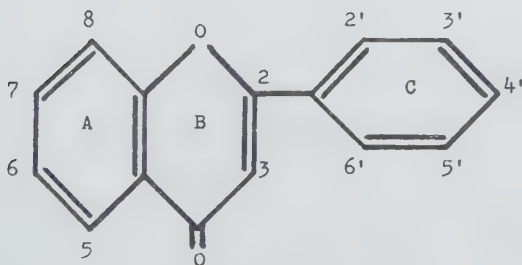
	Seite
3.2.4. Bestimmungsmethoden	18
3.2.4.1. Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität in Organextrakten und angereicherten Enzympräparaten	18
3.2.4.2. Bestimmung von Histamin im Gewebe nach Verschuß der Arteria mesenterica superior	19
3.2.4.3. Bestimmung der Proteinkonzentration	20
3.2.4.4. Messung des arteriellen Blutdruckes und des Hämatokrits	20
3.2.4.5. Statistik	20
4. Ergebnisse	23
4.1. Präzisionskontrolle und Konstruktion von Kontrollkarten	23
4.2. Die Diaminoxydase-Aktivität in verschiedenen Organen bei Hund, Schwein und Kaninchen	28
4.3. Die Diaminoxydase-Aktivität im Darm bei Mensch, Hund, Schwein und Kaninchen	37
4.4. Beispiele für die Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität unter pathologischen Bedingungen beim Menschen	39
4.5. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in vitro	41
4.5.1. Einfluß von (+)-Catechin auf das Testsystem	41
4.5.2. Einfluß von (+)-Catechin auf die Aktivität von Aminoxydasen in vitro	42
4.6. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in Dünndarm und Plasma	45
4.7. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität und der Histaminkonzentration durch (+)-Catechin im Dünndarm bei akuter Ischämie	45
4.8. Beeinflussung von arteriellem Druck, Hämatokrit und Überlebenszeit durch (+)-Catechin nach intestinaler Ischämie	50

	Seite
5. Diskussion	53
5.1. Zuverlässigkeit der Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität im Isotopentest	53
5.2. Die Diaminoxydase-Aktivität bei Mensch, Hund, Schwein und Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Gastrointestinaltraktes	54
5.3. Die Hemmung verschiedener Aminoxydasen in vitro	55
5.4. Die Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in vivo	57
6. Zusammenfassung	60
7. Literaturverzeichnis	61

1. Einleitung

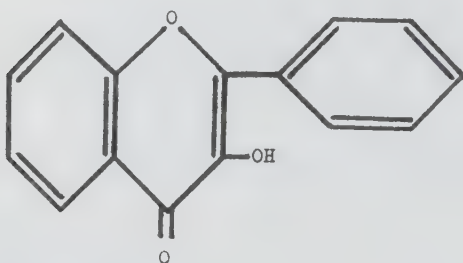
1.1. Chemie der Flavonoide

Als SZENT-GYÖRGI und Mitarbeiter bei ihren Untersuchungen über das Vitamin C das "Citrin" isolierten, bezeichneten sie dieses aus Flavonglycosiden bestehende Substanzgemisch als Vitamin und sprachen von "Vitamin P". Unter der Bezeichnung "Vitamin P" wurden schließlich eine ganze Reihe chemisch verschiedener Stoffe verstanden, die P-Wirkung (= Wirkung auf die Gefäßpermeabilität) zeigten: Flavone, Flavanone, Flavonole, Catechine, Epicatechin, Phloretin u.a. Es wurde aber in keinem Falle der Nachweis erbracht, daß es sich bei den unter dem Namen "Vitamin P" zusammengefaßten Substanzen tatsächlich um Stoffe mit Vitamincharakter handelte. Heute hat sich die Bezeichnung Flavonoide als Sammelname für die in der Natur häufig vorkommenden Glykoside und Aglykone vom Flavonoid-Typ, d.h. von Substanzen, die die $C_6-C_3-C_6$ -Gruppierung besitzen, allgemein durchgesetzt. Als Grundstruktur liegt den Flavonoiden das 2-Phenylbenzo- γ -pyron (= Flavon) zugrunde.



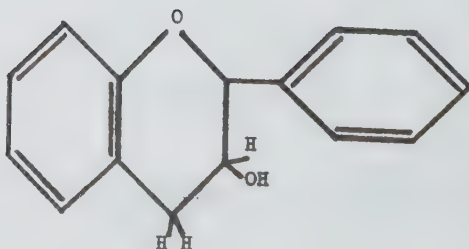
Flavon

Durch Hydroxyl-Substitution an C₃ des Flavons erhält man das Grundskelett der Flavanole.



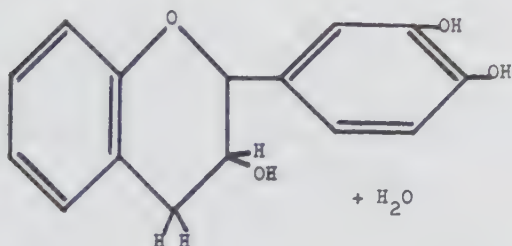
Flavonol

Verbindungen mit einem gesättigten mittleren Ring (B) sind die Flavandiole-3, 4 und die Flavanole-3, die in Position 4 keinen Sauerstoff mehr tragen.



Flavanol

Dazu gehört auch das (+)-Catechin.



(+)-Catechin (Molekulargewicht 290,3)

1.2. Wirkungen von Flavonoiden auf Enzyme

Obwohl verschiedene Wirkungen von Flavonoiden seit einiger Zeit bekannt sind, ist die Wirkungsweise dieser Substanzen bisher nicht sicher geklärt. Die hemmende Wirkung von Flavonoiden auf die Hyaluronidase wurde von verschiedenen Autoren beschrieben (BEILER u. MARTIN, 1948).

Dieser Befund könnte ein Hinweis auf die Mitbeteiligung der Flavonoide an der Aufrechterhaltung der Grundsubstanzstabilität des Bindegewebes sein. Bei der Hemmung der Cholinacetylase durch Flavonoide soll die Chinonbildung eine Rolle spielen (BEILER, BRENDEN, GRAFF u. MARTIN, 1950). Einige Flavonoide hemmen die Xanthinoxidase (BEILER u. MARTIN, 1951). Quercitrin und Rhamnetin hemmen die Dehydrogenase des Musculus pectoralis bei Tauben (URI, KOROSSY u. SZEPIAKI, 1947).

Flavonoide steigern die Aktivität der Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber (HART u. WEA, 1959a) und der Hexokinase aus Rinderleber (HART u. WEA, 1959b).

1.3. Wirkungen von Flavonoiden auf den Histamin- stoffwechsel

Als wichtigste Wirkung von Flavonoiden auf den Histaminstoffwechsel muß die Hemmung der Histidindecaboxylase betrachtet werden. Dieser Effekt wurde 1951 von MULTEID und WERUM für Quercetrin und d-Catechin beschrieben. Als Wirkungsmechanismus wurde ein Zusammenhang mit der Chelombildung vermutet (MARTIN, GRAFF, BRENDDEL u. BEILER, 1949), die zwischen Sulfhydryl- oder Aminogruppe des Enzyms zustande kommen könnte.

Eine Hemmung der sauren Histidindecaboxylase des Rattenmagens und der alkalischen Histidindecaboxylase der Schweineniere durch (+)-Catechin wurde von LORENZ und Mitarbeitern nachgewiesen.

Das Histamin oxydierende Enzym Histaminase wurde nach Angaben von BEILER und Mitarbeitern (1951) durch Flavonoide nicht beeinflusst. Dieser Befund wurde an der 150fach gereinigten Diaminoxydase aus Erbsenkeimlingen und an der 175fach gereinigten Diaminoxydase aus Schweineniere durch Untersuchungen von LORENZ und Mitarbeitern bestätigt. Allerdings scheinen sich Aminoxydasen gegenüber (+)-Catechin nicht gleichartig zu verhalten, wie ebenfalls Untersuchungen von LORENZ und Mitarbeitern zeigten, die nachwiesen, daß sowohl die Diaminoxydase als auch die lösliche Monoaminoxydase des Schweinedarmes in ihrer Aktivität vermindert werden.

Einige Effekte, die an Versuchstieren beobachtet wurden, lassen an ein Eingreifen von Flavonoiden in den Histaminstoffwechsel auch in vivo denken. So verminderte d-Catechin die Intensität des anaphylaktischen Schocks beim Meerschweinchen (MOSS, BEILER, MARTIN, 1950). Bei weiblichen Ratten verhinderte (+)-Catechin (25 mg/kg) signi-

likant die Bildung von Maggenuclera im Immobilisationsstress (LORENZ et al. 1975). Bei beiden Erkrankungen, anaphylaktischer Schock und Stressulcusentstehung, wurde die Freisetzung von Histamin bei den Versuchstieren nachgewiesen (LORENZ, FEIFEL, 1970 a u. b), so daß ein Pharmakon, das in den pathophysiologischen Ablauf dieser Prozesse eingreift, mit einer Verhinderung der Histaminwirkung in Verbindung gebracht werden kann.

1.4. Pathophysiologische Bedeutung der intestinalen Diaminoxydase

Die Inaktivierung von Histamin erfolgt im Säugetier neben der Methylierung (BROWN, TOMCHICK, AXELROD, 1959), vor allem auch durch oxydative Desaminierung, katalysiert durch das Enzym Diaminoxydase (auch Histaminase genannt) (ZEHLER 1938 a u. b) (recommended name: amine oxidase (pyridoxal containing) amine: oxygen oxidoreductase (deaminating) (pyridoxal containing) (EC 1.4.3.6).

Dieses Enzym kommt außer in der Placenta und der Niere (KAPELLER, ADLER, 1970) bei allen bisher untersuchten Säugerspezies in der Darmmukosa in besonders hoher Konzentration vor (WATON 1946, BURKARD 1954, VALETTE et al. 1956). Auf Grund ihrer Lokalisation könnte die intestinale Diaminoxydase die Aufgabe haben, zu verhindern, daß zu große Mengen Histamin aus der Nahrung resorbiert werden und in den Kreislauf gelangen. Tatsächlich ist die toxische Wirkung von Histamin weit geringer, wenn es peroral und nicht parenteral verabreicht wird (BORET et al. 1948).

Unter physiologischen Bedingungen wiesen Versuche von

SJAASTADT (1967) auf eine Schutzwirkung der intestinalen Diaminoxidase hin.

In diesen Versuchen wurde histaminreiche Nahrung an Schafe verfüttert, wobei ein Teil der Tiere vorher mit Aminoguanidin, dem spezifischen Hemmstoff der Diaminoxidase, behandelt worden war. Im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren stieg die Ausscheidung von freiem Histamin im Urin von mit Aminoguanidin behandelten Tieren um das 22fache an, und nur bei diesen Tieren traten Symptome einer Histaminvergiftung auf, die auf das Eindringen des Amins in den Organismus hinwiesen.

Unter pathophysiologischen Bedingungen konnten RICHTER und Mitarbeiter (1973) den Verlust einer Schutzwirkung nach Hemmung der Diaminoxidase nachweisen. Nach akutem Verschuß der Arteria mesenterica superior und anschließender Revaskularisation verendeten mit Aminoguanidin, dem spezifischen Hemmstoff der Diaminoxidase, vorbehandelte Kaninchen ca. 10mal schneller im Schock als unbehandelte Tiere.

Diese Verkürzung der Überlebenszeit stand in strenger Abhängigkeit von der verwandten Aminoguanidin-Dosis und erreichte ein Maximum bei 100 mg/kg.

2. Ziel der Arbeit

Die Wirkung des Flavonoids (+)-Catechin auf den Histaminstoffwechsel muß vor allem unter zwei Gesichtspunkten gesehen werden

- 1) vermindert es möglicherweise die Bildung des Amins durch Hemmung der Histidindecaboxylase
- 2) schränkt es möglicherweise die Inaktivierung des Amins durch Hemmung der Diaminoxidase ein.

Je nach Wahl eines experimentellen Modells könnte also zwischen einer (+)-Catechin induzierten Verminderung der Histaminwirkung durch Hemmung der Histidindecaboxylase oder einer (+)-Catechin induzierten Potenzierung der Histaminwirkung durch Diaminoxidasehemmung unterschieden werden.

Bei der experimentellen intestinalen Ischämie am Kaninchen wurde eine Potenzierung der Histaminwirkung - kenntlich an einem beschleunigten Kreislaufzusammenbruch - durch die spezifische Hemmung der Diaminoxidase mit Hilfe von Aminoguanidin erzielt. Gleichzeitig konnte eine Freisetzung von Histamin in die Darmgefäße nachgewiesen werden (KUSCHE et al. 1977).

Die Frage einer möglichen Potenzierung der Histaminwirkung bei intestinaler Ischämie durch Hemmung der Diaminoxidase, d.h. der Wegfall der Schutzwirkung des Enzyms, stand im Vordergrund der hier vorgelegten Untersuchungen.

Zur Klärung dieser Frage erschien es zweckmäßig, zunächst Vorkommen und Verteilung der Diaminoxidase im Gastrointestinaltrakt verschiedener Säuger zu untersuchen, vor allem auch beim Menschen, um einen Anhalt für die Übertragbarkeit tier-experimenteller Daten auf den Menschen zu gewinnen. Die Untersuchung der (+)-Catechinwirkung auf

intestinale Aminoxydasen in vitro sollte die Frage beantworten, ob (+)-Catechin als Hemmstoff für diese Enzyme zu betrachten ist oder nicht.

Die Anwendung der in vitro erhaltenen Ergebnisse erfolgte schließlich durch Untersuchungen am Kaninchen in vivo, wobei zunächst die Frage beantwortet werden mußte, wie (+)-Catechin auf die Diaminoxydase-Aktivität gesunder Kaninchen wirkt. Unter den Bedingungen der intestinalen Ischämie sollte dann untersucht werden, ob (+)-Catechin als Hemmstoff der Diaminoxydase ebenfalls in der Lage ist, die Schutzwirkung des Enzyms aufzuheben und dadurch die Kreislaufwirkungen von Histamin zu potenzieren.

3. Material und Methodik

3.1. Material

3.1.1. Gewinnung von Organmaterial

Zur Prüfung der Beeinflussung der Diaminoxidase-Aktivität durch (+)-Catechin in vitro und in vivo wurden reinrassige männliche Kaninchen (Rasse Groß-Silber, 3,1 - 3,9 kg) verwendet. Sie wurden eine Woche lang eingewöhnt, in Einzelkäfigen gehalten und mit Solikanin (Art.-Nr. 728, Muskatwerke Düsseldorf) und Wasser ad libitum ernährt.

Zur Bestimmung der Diaminoxidase-Aktivität im Gastrointestinaltrakt des Menschen wurde Gewebe intraoperativ von insgesamt 21 Patienten im Gesunden an einer oder mehreren Stellen entnommen. Es handelte sich um 8 weibliche und 13 männliche Patienten im Alter von 9 - 80 Jahren, bei denen einmal eine Ileitis terminalis, einmal eine Diverticulitis, siebenmal ein Ulcusleiden, viermal ein Magencarcinom, einmal ein Sigmatumor, zweimal ein Rektumtumor, dreimal ein Mesenterialinfarkt sowie viermal ein Ileus vorlagen. Die operativen Eingriffe wurden in Intubationsnarkose mit Thiopentaleinleitung, Suxamethonium, Dimethyltubocurarin-Halothan-Lachgas durchgeführt.

Tierisches Gewebe zur Bestimmung der Diaminoxidase-Aktivität in verschiedenen Organen sowie zur Anreicherung des Enzyms wurde Bastardhunden beiderlei Geschlechts sowie Bastardkaninchen beiderlei Geschlechts in Pentobarbitalnarkose jeweils nach Entbluten der Tiere entnommen und sofort eisgekühlt.

Gewebeproben von Schweineorganen wurden in einer öffentlichen Schlachthanlage unmittelbar nach Töten und Entbluten der Tiere entnommen und ebenfalls eisgekühlt. Alle

Geweberohben wurden bis zur Aufarbeitung bei -20°C gelagert. Zur Messung der Enzymaktivitäten in Organ-
geweben wurden tiefgefrorene Gewebeproben von etwa 1 - 3 g
Trockengewicht mit 3 Volumina eisgekühltem Phosphatpuffer
($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$, 0,2 M, pH 6,8 oder 7,6) mit dem Ultra-
turraz homogenisiert und bei $0 - 2^{\circ}\text{C}$ und 48 000 g 30 Mi-
nuten in der Sorvall-Zentrifuge zentrifugiert. Im Über-
stand wurde die Diaminoxydase-Aktivität mit ^{14}C -Putrescin
als Substrat bestimmt. Zur Bestimmung der Plasma-Diamin-
oxydase-Aktivität wurde arterielles Blut bei 1 500 g und
 0°C 15 Minuten in der Christ-Zentrifuge zentrifugiert
und die Diaminoxydase-Aktivität im Plasma mit der
 ^{14}C -Putrescin-Methode bestimmt.

3.1.2. Herstellung angereicherter Enzympräparate

3.1.2.1. Herstellung des Rohextraktes

Der frisch entnommene Dünndarm wurde entlang der Längs-
muskulatur aufgeschnitten und mit kalter physiologischer
Kochsalzlösung gespült. Die Schleimhaut wurde anschlie-
ßend mit eisgekühltem Phosphatpuffer ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$,
0,2 M, pH 6,8) homogenisiert. Der gleiche Puffer wurde
für alle weiteren Schritte verwendet, die bei $0 - 4^{\circ}\text{C}$
erfolgten. Das Homogenat wurde 30 Minuten bei 48 000 zen-
trifugiert und im Überstand die Diaminoxydase-Aktivität
mit dem Isotopen-Test bestimmt.

3.1.2.2. Gelfiltration an Sephadex G 50

Anteile von je 10 ml des gesamten Überstandes wurden über
eine entsprechende Anzahl von Sephadex G 50-Säulen (2 x 30
cm, äquilibriert mit Phosphatpuffer) gelfiltriert. Das
Erscheinen der Proteine wurde mit dem Ultraviolettabsorp-

tionsspektrometer LKB 8300 Uvicord II kontinuierlich bei 280 nm gemessen. Die Fraktionen des Proteingipfels - gesammelt in 4 - 5 ml Portionen - umfaßten ein Gesamtvolumen von ca. 15 ml und wurden vereinigt zur Weiterbearbeitung verwendet. In diesem Effluat konnte die Enzymaktivität sowohl mit dem 14 C-Putrescin-Test als auch mit dem NADH-Test unter Verwendung verschiedener Substrate gemessen werden. Zur Notwendigkeit der Vorreinigung der Gewebsextrakte über Sephadex G 50 für den NADH-Test siehe LORENZ et al. (1968).

3.1.2.3. Gelfiltration an Sephadex G 200

Die weitere Anreicherung der Diaminoxydase und die Abtrennung einer löslichen Monoaminoxydase erfolgte durch Gelfiltration an Sephadex G 200 (KUSCHE et al. 1975). Jeweils 5 ml des gesamten Gelfiltrates von den Sephadex G 50-Säulen wurden einer erneuten Gelfiltration an Sephadex G 200-Säulen (2 x 60 cm, äquibriert mit Phosphatpuffer) unterzogen. Das Erscheinen der Proteine im Effluat wurde, wie oben angegeben, kontinuierlich verfolgt. 4 - 5 ml Fraktionen wurden gesammelt. Die gesamte Diaminoxydase-Aktivität, gemessen mit 14 C-Putrescin- und NADH-Test, war unmittelbar nach dem ersten Proteingipfel (Abb. 1) in einem Gesamtvolumen von ca. 15 - 20 ml enthalten. Ein Beispiel für die Anreicherung des Enzyms ist in Abb. 1 dargestellt, wobei die Proteinkonzentration im Effluat nach LOWRY et al. (1951) überprüft wurde. Die spezifische Aktivität des Enzympräparates betrug danach 0,7 mU/mg Protein, die Ausbeute überraschenderweise 273 %, ein Ergebnis, das 4mal reproduziert und auf Inhibitoren im Darmextrakt zurückgeführt wurde.

Mit den Proben des so erhaltenen Enzympräparates wurden die Untersuchungen über die Eigenschaften des Enzyms aus Kaninchendünndarm sowie die Hemmversuche durchgeführt.

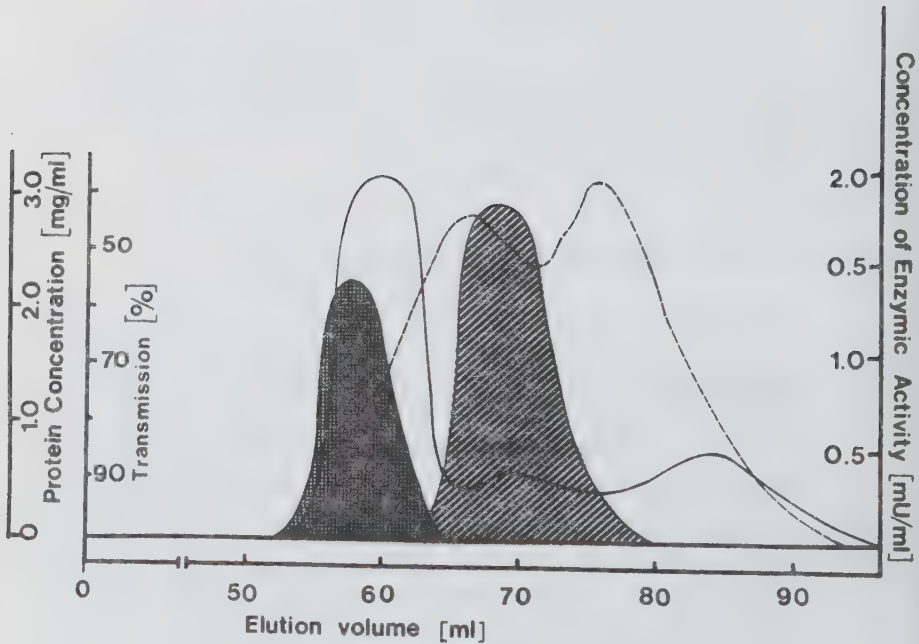


Abb. 1:

Gelfiltration eines Sephadex G 50-Präparates der Aminoxydase aus Kaninchendünndarm an Sephadex G 200
Diagramm der Ergebnisse aus einem Einzelversuch. Die Enzymaktivität wurde mit der NADH-Methode gemessen, die Proteinkonzentration nach LOWRY et al. bestimmt. — % Transmission, gemessen bei 280 nm mit dem Uvi-cord II Spektrometer (LKB), --- Proteinkonzentration, ■ Serotonin abbauende Aktivität, ▨ Putrescin abbauende Aktivität. Weitere Bedingungen siehe Material und Methode.

3.1.3. Reagentien und Pharmaka

Da beim Isotopentest die Präzision und Richtigkeit der erhaltenen Werte in besonderem Maße von der Herstellung der Reagentien abhängen, wird deren Herstellung nach den Empfehlungen von BERGMAYER (1970) in allen Einzelheiten beschrieben.

3.1.3.1. Für den Isotopentest

Es wurde nur bidestilliertes Wasser benutzt. - Phosphatpuffer (0,2 M; pH 6,8) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ und KH_2PO_4 (MERCK) - Putrescin-Dihydrochlorid (15 mM) (Fluka): 120,7 mg wurden in 50 ml Phosphatpuffer gelöst - Putrescin - 1,4 - ^{14}C -Dihydrochlorid (The Radiochemical Center, Amersham): Spezifische Aktivität 17,8 mCi/mmol, 50 μCi /Ampulle entsprechend 2,8 μmol Putrescin. Der Inhalt einer Ampulle wurde in 50 ml einer Lösung von unmarkiertem Putrescin gelöst (siehe oben). In der Substratlösung wurde somit eine spezifische Aktivität von 1 $\mu\text{Ci/ml}$ = $2,2 \times 10^6$ dpm/ml erhalten. Da unter diesen Bedingungen das Verhältnis von markiertem zu unmarkiertem Putrescin 1 : 270 betrug, konnte der Anteil von markiertem Putrescin bei der Berechnung der Endkonzentration des Substrates im Ansatz vernachlässigt werden. - HClO_4 70 % (MERCK) ca. 11,9 M : 7 ml wurden in Wasser ad 50 ml gelöst. Die angegebene Menge an 70 % Perchlorsäure muß sehr genau eingehalten werden, denn sie beeinflusst entscheidend den endgültigen pH der wässrigen Phase. - Stark alkalischer Puffer: Es wurden 1 000 ml einer gesättigten NaHCO_3 (MERCK) - Lösung hergestellt. Diese Stammlösung wurde bei Raumtemperatur aufbewahrt. Zu ca. 200 ml des klaren Überstandes dieser Lösung wurde 2 n NaOH so lange zugegeben, bis ein pH von 12,2 erreicht war. Die Kontrolle des pH-Wertes erfolgte am pH-Meter mittels einer Glaselektrode.

Toluol-2,5-Diphenyl-oxazol (PPO, 0,35 %, MERCK):

Zu 1 000 ml Toluol wurden 3,5 g PPO zugegeben. -

^{14}C -Toluol (Standardlösung, BUCHLER): $7,76 \times 10^5$ dpm/ml.

3.1.3.2. Für den NADH-Test

Phosphatpuffer (siehe oben) - α -Oxoglutarat (171 mM) (BOEHRINGER, Mannheim) 97,5 mg Na_2 - α -Oxoglutarat werden in 3 ml Wasser gelöst oder 75 mg α -Oxoglutarsäure werden in 1 ml Wasser gelöst, 1 n NaOH wird zugegeben, bis ein pH von 7,6 erreicht ist, die Lösung wird auf 3 ml mit Wasser aufgefüllt. - Reduziertes Nicotinamid-adenin-dienucleotid (β -NADH, 5,7 mM, BOEHRINGER, Mannheim): 12,1 mg NADH- Na_2 werden in 3 ml 1 % NaHCO_3 -Lösung aufgenommen. - Substratlösung (30 mM Putrescin): 14,5 mg Putrescin-dihydrochlorid werden in 3 ml Phosphatpuffer gelöst. - Glutamat-Dehydrogenase (GLDH, 10 mg/ml, BOEHRINGER, Mannheim): Handelspräparat. Stabilität der Lösungen: Die Lösung an radioaktivem Substrat, die in Portionen zu je 5 ml aufgeteilt wurde und bei -40°C gelagert wurde, war über mehrere Monate stabil.

α -Oxoglutarat und NADH wurden bei $0 - 4^\circ\text{C}$ gelagert. GLDH, gelöst in Glycerin, zeigte keinen signifikanten Aktivitätsverlust innerhalb von 6 Monaten, wenn es bei 4°C gelagert wurde.

3.1.3.3. Für die Histaminbestimmung

Histamindihydrochlorid Purissimum (Fluka), o-Phthaldialdehyd Purissimum (umkristallisiert in Petroläther, Sp. $40 - 60^\circ\text{C}$) (Fluka)-Methanol, n-Heptan (Uvasol^R), n-Butanol (für Chromatographie), HClO_4 , HCl und NaCl (Suprapur^R), NaOH (Selectipur^R) (alle von MERCK, Darmstadt) - Dowex 50 W-X8, H^+ , Korngröße 200 - 400 (Serva).

3.1.3.4. Sonstige Reagentien

Pentobarbital (Nembutal^R, Abott), (+)-Catechin (Z 7000, ZYMA BLAES AG).

3.2. Methodik

3.2.1. Beeinflussung der Diaminoxidase-Aktivität durch (+)-Catechin in Dünndarm und Plasma von Kaninchen

Zur Gewinnung der Darm- und Plasmaproben wurden die Kaninchen mit Pentobarbital (20 - 25 mg/kg i.v. in die Ohrvene) betäubt.

Zur Kontrolle des arteriellen Blutdruckes wurde die rechte Arteria femoralis freipräpariert und über sie ein Polyäthylenkatheter zur Aorta abdominalis vorgeschoben. Mittels eines Statham-Druckwandlers sowie einer Meßbrücke und eines Kompensationsschreibers (Hellige) wurde der Blutdruck fortlaufend registriert.

Vor dem operativen Eingriff wurde das Abdomen geschoren und die Haut mit Phenylhydragryum (Merfen^R) desinfiziert. Durch eine mediane Unterbauchlaparotomie wurde die Bauchwand eröffnet. Um eine wiederholte Entnahme von Darmgewebe bei möglichst geringer Irritation des gesamten Intestinaltraktes zu ermöglichen, wurde die meist unmittelbar hinter der Bauchwand gelegene erste Jejunalschlinge aufgesucht. Etwa 1 g schwere Darmproben wurden nach vorheriger Ligatur der zuführenden Gefäße jeweils vor Injektion von 50 mg/kg (+)-Catechin (gelöst in 3 ml/kg 0,9 %iger NaCl-Lösung) sowie 1, 5, 15, 30, 60 und 90 Minuten nach der Injektion entnommen und sofort in eiskühlten Gefäßen untergebracht. Zwischen den Gewebsentnahmen wurde zur Vermeidung einer Infektion durch die

Bauchdecken die Laparotomiewunde mit Tuchklemmen verschlossen und mit sterilen Tüchern abgedeckt.

2 ml Blut zur Gewinnung der Plasmaproben wurden ebenfalls vor sowie 1, 5, 15, 30, 60 und 90 Minuten nach (+)-Catechin-Injektion aus dem Katheter in der A. femoralis entnommen und sofort eisgekühlt.

3.2.2. Standardmodell für den Verschluß der Arteria mesenterica superior und die Bestimmung der Überlebenszeit nach intestinaler Ischämie

Auf Grund der anatomischen Gegebenheiten wurden Dünndarm und Colon bis zum Colon descendens durch einen Verschluß der Arteria mesenterica superior von der arteriellen Blutversorgung ausgeschlossen (ROSS, 1972).

Durch Injektion des Farbstoffes Indigocarmin in die Arteria mesenterica superior konnte auf Grund der Anfärbung der einzelnen Darmabschnitte in Vorversuchen der genaue Versorgungsbereich der oberen Mesenterialarterie festgestellt werden. Duodenum und Pankreas waren vom Verschluß der Arteria mesenterica superior nicht betroffen. Die venöse Versorgung des Darmes über die Venae mesentericae superiores mit Anschluß an die Pfortader wurde nicht unterbunden, der Pfortaderdruck, in insgesamt 5 Experimenten mit dem Statham-Druckwandler gemessen, stieg während des Arteria mesenterica superior-Verschlusses nicht an.

Zur Anlage der Ischämie wurden die Kaninchen nach Betäuben mit Pentobarbital (20 - 25 mg/kg i.v. in die Ohrvene) zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur auf einen beheizten Operationstisch gelegt und bei Spontanatmung belassen. Die Kontrolle und Konstanthaltung der Körpertemperatur hatte sich in Vorversuchen als kritisch erwiesen, da deren Absinken zu einer Verkürzung der Über-

lebenszeit der Tiere führte. Es wurde die Oesophagus- und in einigen Fällen auch die Rektaltemperatur gemessen.

In der rechten Arteria femoralis wurde ein Polyäthylenkatheter bis zur Aorta abdominalis vorgeschoben. Puls und Blutdruck wurden vom Beginn der Darmischämie an fortlaufend kontrolliert.

Durch eine mediane Oberbauchlaparotomie wurde die Arteria mesenterica superior etwa 1 - 2 cm nach ihrem Abgang aus der Bauchaorta freipräpariert und mit einer Klemme verschlossen (Beginn der arteriellen Ischämie). Mit Tuckklemmen wurde die Laparotomiewunde rasch verschlossen und mit sterilen Tüchern abgedeckt. Die Dauer des Arterienverschlusses war in Vorversuchen bei 105 Minuten als optimal befunden worden, da eine länger dauernde arterielle Ischämie innerhalb weniger Minuten zum Tode aller Versuchstiere führte, während eine kürzere Verschlusszeit die Überlebenszeit so stark verlängerte, daß unspezifische, allein durch die Operation bedingte Faktoren, wie Narkosedauer und beginnende Infektion, die Überlebenszeit in zunehmendem Maße beeinflussten. Als das Ende der arteriellen Ischämie und der Beginn der Revaskularisationsphase wurde der Augenblick der Abnahme der Gefäßklemme festgelegt. Als das Ende der Überlebenszeit bezeichneten wir den Kreislaufstillstand, der durch die Null-Linie bei der Aufzeichnung der Pulswelle am Oszillographen festgestellt wurde. Die Überlebenszeit wurde somit vom Abnehmen der Klemme bis zum Kreislaufstillstand gerechnet und mit einer Stoppuhr bestimmt.

3.2.3. Einfluß von (+)-Catechin auf Überlebenszeit und verschiedene biologische Parameter nach temporärem Verschluß der Arteria mesenterica superior

Es wurden zwei Gruppen A und B zu jeweils 10 Tieren gebildet. Die Zuteilung zu der jeweiligen Gruppe erfolgte mittels Random-Tabellen (GOLDSTEIN et al.). Die Tiere der Gruppe A erhielten nach Betäuben mit Pentobarbital jeweils 50 mg/kg (+)-Catechin gelöst in 3 ml/kg physiologischer Kochsalzlösung i.v. in die Ohrvene. Die Tiere der Gruppe B (Kontrollgruppe) erhielten, ebenfalls in Pentobarbitalnarkose, das gleiche Volumen physiologische Kochsalzlösung. Anschließend wurde bei beiden Gruppen ein Arteria mesenterica superior-Verschluß durchgeführt und die Überlebenszeit bestimmt. Gewebeproben aus der ersten JejunalSchlinge (Gewicht ca. 1 g) wurden vor Beginn des Arterienverschlusses sowie unmittelbar vor und unmittelbar nach Beginn der Revaskularisation entnommen. Zum gleichen Zeitpunkt wurde arterielles Blut zur Bestimmung von Hämatokrit und Diaminoxidase-Aktivität im Plasma aus dem Katheter in der Aorta entnommen.

3.2.4. Bestimmungsmethoden

3.2.4.1. Bestimmung der Diaminoxidase-Aktivität in Organextrakten und angereicherten Enzympräparaten

Die Diaminoxidase-Aktivität wurde mit der Isotopenmethode nach OKUYAMA und KOBAYASHI (1961) in der Modifikation nach KUSCHE et al. (1973) bestimmt. Als Substrat wurde ^{14}C -Putrescin verwendet, das entstehende Δ^1 -Pyrrolin und seine Polymerisate wurden in Toluol extrahiert und im Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard, Modell TriCarb 3380) gemessen (Tab. 1).

Die Zählausbeute betrug mehr als 90 %. Die Eichung der Isotopenmethode wurde mit dem NADH-Test nach LORENZ et al. (1967) entsprechend den Angaben von KUSCHE et al. (1973) durchgeführt: 215 cpm entsprachen 1 nMol Δ^1 -Pyrrolin. Die Enzymaktivität wurde in 1/1000 I.E. (= 1 mU)/g Frischgewicht bzw. in mU/mg Protein angegeben, wobei als Inkubationstemperatur 37° C gewählt wurde (vgl. BERGMAYER, 1971).

Nicht nur zur Eichung der Isotopenmethode, sondern auch zur Bestimmung der Desaminierungsgeschwindigkeit von Substraten, die im Isotopentest nicht erfaßt werden konnten, z.B. Histamin, wurde an angereicherten Enzympräparaten der NADH-Test nach LORENZ et al. (1967) verwendet (Tab. 2). Der bei der Diaminoxidase-Reaktion freiwerdende Ammoniak wurde dabei in Gegenwart von Glutamat-Dehydrogenase mit α -Oxoglutarat zu Glutamat umgesetzt, wobei NADH zu $\text{NAD}^+ + \text{H}^+$ oxydiert wurde. Die Enzymaktivität wurde mit dieser Methode wiederum in mU/g Gewebe oder in mU/mg Protein angegeben.

3.2.4.2. Bestimmung von Histamin im Gewebe nach Verschuß der Arteria mesenterica superior

Histamin im Gewebe wurde entsprechend der Methode von LORENZ et al. (1971) bestimmt. Nach Enteiweißung der Homogenate mit 0,4 n HClO_4 wurde das Amin durch Ionenaustauschchromatographie an Dowex 50 W-X8 isoliert und nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd fluorometrisch gemessen. Wie die Ergebnisse von LORENZ et al. (1973) zeigten, ist die Spezifität dieser Methode für Kaninchenorgane durch Bestimmung der Fluoreszenzspektren und Übereinstimmung von fluorometrischer Methode mit dem biologischen Test sowie Prüfung des letzteren mit spezifischen H_1 -Rezeptorantagonisten, wie Antazolin, ausreichend nachgewiesen.

3.2.4.3. Bestimmung der Proteinkonzentration

Die Proteinkonzentration in Rohextrakten (Proteingehalt > 1 mg/ml) wurde mit der Biuret-Reaktion nach WEICHSELBAUM (1946) bestimmt, in angereicherten Enzympräparaten (Proteingehalt < 1 mg/ml) nach der Methode von LOWRY et al. (1951).

3.2.4.4. Messung des arteriellen Blutdrucks und des Hämatokrits

Der arterielle Blutdruck wurde mit Hilfe eines Statham-Druckwandlers (P 23 Db) gemessen und mit einem Hellige-Kompensationsschreiber registriert. Der mittlere arterielle Druck wurde nach der Formel

$$\frac{\text{systolischer Druck} + 2 \times \text{diastolischer Druck}}{3}$$

(BURTON, 1969) berechnet.

Der Hämatokrit wurde nach MÜLLER, SEIFERT (1966) mittels der Mikro-Hämatokrit-Zentrifuge unter Verwendung von heparinisierten Glaskapillaren bestimmt.

3.2.4.5. Statistik

Die statistischen Berechnungen (Mittelwerte, Student-t-Test etc.) wurden am Olivetti-Tisch-Computer (Programma 102) durchgeführt. Ein besonderes Problem stellte die Berechnung der Überlebenszeit dar. Nach CAVALLI-SFORZA (1972) wurde neben dem arithmetischen Mittel auch das harmonische Mittel verwendet.

	Menge	Zusammensetzung des Ansatzes
1. Inkubationsverfahren: Nacheinander in Zentrifugengläser pipettieren Phosphatpuffer Enzym	 0,5 ml 0,2 ml	 0,2 M, pH 6,8 od. 7,6
Mischen, auf 37° C bringen und die Reaktion starten mit Substrat: 14 C-Putrescin und unmarkiertes Putrescin	0,05 ml	0,01 M 10 ⁵ dpm
Mischen und nach definierten Inku- bationszeiten (0, 15, 30, 45 min.), die Reaktion stoppen mit Perchlor- säure	0,2 ml	0,4 M
2. Extraktionsverfahren: Nacheinander in die Zentrifugen- gläser pipettieren Stark alkalischer Puffer (pH 12,2) Toluol-PPO (0,35 %)	 1,0 ml 6,0 ml	 pH 10,0 ± 0,1
Die Zentrifugengläser werden mit Glasstopfen verschlossen und 4 min. geschüttelt; um eine Trennung von wässriger Phase und organischer Phase zu erzielen, wird kurz zentri- fugiert. Bei - 20 bis - 40° wird die wässrige Phase im Äthanolbad einge- froren		
3. Liquidscintillation counting: In spezielle, zur Scintillations- zählung geeignete Polyaethylen- fläschchen werden folgende Lösungen gegeben: Toluol-PPO (0,35 %)	 5 ml 6 ml	
Die organische Phase wird von der tiefgefrorenen wässrigen Phase dekantiert Die Polyaethylenfläschchen werden verschlossen und in den Scintilla- tionszähler gebracht		

Tab. 1:
Inkubations-, Extraktions- und Testverfahren zur Bestimmung
von Diaminoxidase-Aktivität im Isotopentest (Substrat
¹⁴ C-Putrescin und unmarkiertes Putrescin)

Nacheinander in Küvetten pipettieren	Menge	Endkonzentration im Ansatz
Phosphatpuffer	1,65-2,55 ml	ca. 0,2 M
GLDH	0,05 ml	ca. 1,0 U/ml
α -Oxoglutarat	0,10 ml	5,7 mM
NADH	0,10 ml	0,19 mM
Enzympräparat	0,1 - 1,0 ml	0,02 - ca.20
Mischen und 10 min. stehen lassen; der im Inkubationsansatz vorhandene Ammoniak reagiert während dieser Zeit ab und die Probe wird auf 37° C temperiert.		
Substrat: z.B. Putrescin	0,10 ml	1 mM
Mischen und den Extinktionsabfall am Photometer mit Schreiber re- gistrieren. Automatischer Küvetten- wechsel alle 30 sec.		
Endvolumen	3,0 ml	

Tab. 2:

Inkubationsansatz zur Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität
im NADH-Test

4. Ergebnisse

4.1. Präzisionskontrolle und Konstruktion von Kontroll- karten

Wird eine Analysenmethode über einen längeren Zeitraum angewandt, so ist die Präzision dieser Methode, z.B. anhand der Aktivitätsbestimmung, in einem stabilen Präparat, das als Kontrollenzym eingesetzt wird, auch über diesen Zeitraum zu ermitteln.

Diese Prüfung der Präzision einer Methode entspricht dann den tatsächlich gegebenen Arbeits- und Versuchsbedingungen, bei denen nicht die idealen Verhältnisse wie bei der Bestimmung einer Serie innerhalb eines einzigen Tages vorliegen (gleicher Analytiker, gleiche Reagentien, gleiche Meßbedingungen). Die "Bestimmung von Tag zu Tag" liefert realistische Werte und wird daher von vielen Autoren gefordert (BERGMAYER, 1970).

In Tab. 3 sind Mittelwerte und Standardabweichungen von Aktivitätsbestimmungen im Kontrollenzympräparat aus Schweineniere dargestellt, die sich über einen Zeitraum von März bis August 1974 erstreckten. Es sind die Ergebnisse von zwei Untersuchern gegenübergestellt, und zwar die Meßwerte, die von einer gut eingearbeiteten MTA (J. Sch.) erhoben wurden sowie die eigenen Aktivitätsbestimmungen. Beide Meßreihen liegen innerhalb der in der klinischen Chemie geforderten Präzisionsgrenze von 10 % (höchstens 15 % für enzymatische Tests). Aufgrund der nur geringen Abweichungen in beiden Untersuchungsreihen wird ferner angezeigt, daß dank der einfachen Durchführbarkeit der Methode auch ein relativ unerfahrener Analytiker in der Lage ist, ebenso zuverlässige Meßwerte zu erstellen wie eine erfahrene Fachkraft.

Untersucher	$\bar{x}$ Enzymaktivität (cpm/min)	VK (%) innerhalb eines Tages	VK (%) von Tag zu Tag	n
J. Sch.	111	5,6	9,1	14
A. F.	128	7,7	10,7	14

Tab. 3:

Aktivitätsbestimmung an Kontrollenzym aus Schweineniere

Diaminoxidase-Aktivitäten in cpm/min. pro Ansatz

Untersuchungszeitraum: März bis August 1974

VK = Variationskoeffizient

Die Durchführung von Doppelbestimmungen bei der Messung der Diaminoxidase-Aktivität des Kontrollpräparates ermöglichte die Konstruktion von Mittelwerts- und Bereichskontrollkarten nach SHEWART (1931). Als Beispiel sind die der Tabelle 3 entsprechenden Kontrollkarten der Analytiker J. Sch. und A. F. dargestellt (Abb. 2 und 3).

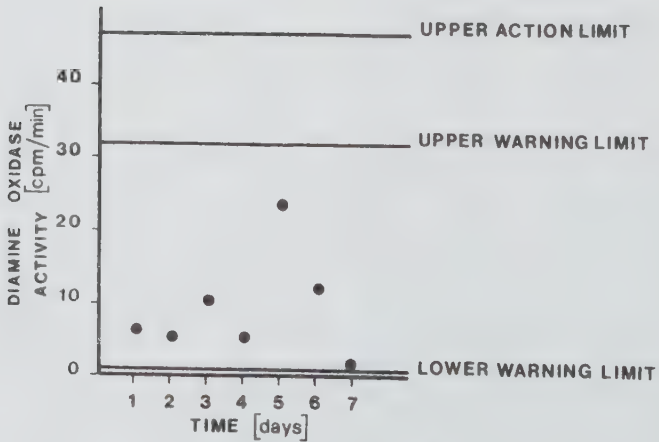
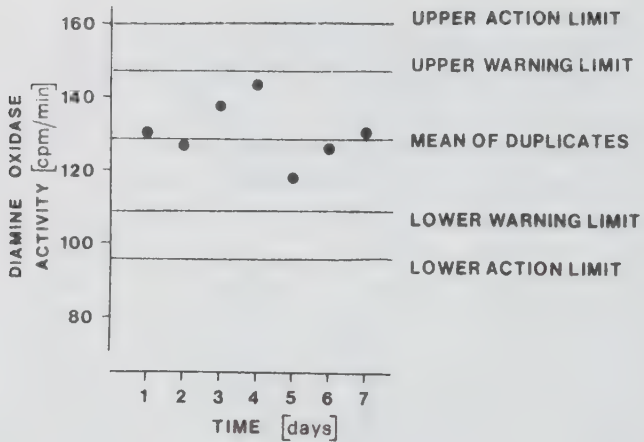


Abb. 2:

Doppelwert - Standard - Kontrollkarten

Kontrollenzym aus Schweineniere

Analytiker: A. F.

Time: Reihenfolge der Bestimmungstage im Zeitraum
März bis August 1974

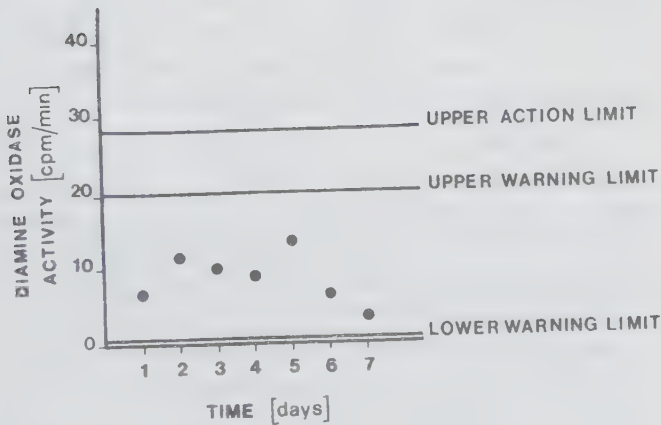
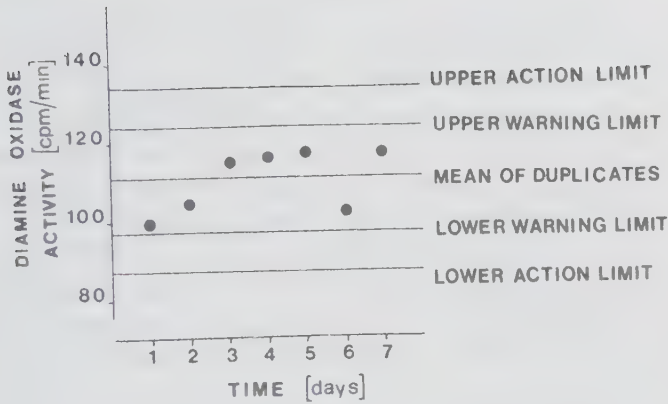


Abb. 3:

Doppelwert - Standard - Kontrollkarten

Kontrollenzym aus Schweineleiere

Analytiker: J. Sch.

Time: Reihenfolge der Bestimmungstage im Zeitraum
März bis August 1974

4.7. Die Diaminoxydase-Aktivität in verschiedenen Organen bei Hund, Schwein und Kaninchen

Die Erfahrungen während der Untersuchungen über die Funktion der Diaminoxydase im Kaninchendarm (RICHTER, 1973) zeigten, daß es trotz mancher in der Literatur vorhandenen Angaben nötig war, die Diaminoxydase-Aktivität in den verschiedenen Organen der bei den Experimenten verwendeten Spezies erneut zu untersuchen, und zwar unter Berücksichtigung der Forderungen, die die klinische Chemie an die Optimierung und Standardisierung eines Enzymtestes stellt.

Beim Kaninchen war, trotz Angaben über das Vorkommen von Diaminoxydase in Leber und Lungen (COTZIAS u. DOLE, 1952, ARGENTO-CERU u. ANTUORI, 1973, WATON, 1956, VALETTE, COHEN u. BURKARD, 1956, GLANZMANN u. GLANZMANN-ZAPPEL, 1971), nach unseren Messungen der Darm das einzige Organ, das Diaminoxydase-Aktivität aufwies.

Die Ergebnisse der Diaminoxydase-Bestimmung in verschiedenen Organen bei Hund, Schwein und Kaninchen sind in Tab. 4, 5 und 6 dargestellt. Bei diesen Spezies waren lediglich Niere und Darm einschließlich der mesenterialen Lymphknoten Organe mit beträchtlicher Diaminoxydase-Aktivität. In einigen Organen, z.B. in Schweinemilz und -thymus sowie im Hundepankreas, waren allenfalls Spuren des Enzyms, jedoch nicht regelmäßig, nachzuweisen.

Eine sehr umstrittene Frage bildete das Vorkommen von Diaminoxydase in der Magenschleimhaut von Säugern. Lediglich im Rattenmagen (KOBAYASHI u. IVY, 1958), Menschenmagen (WERLE, 1940, WILLIAM, 1976) und Kaninchenmagen (WERLE, 1940, WERLE u. LORENZ, 1964) wurde das Enzym gefunden. Es fehlte dagegen bei Katze (BEST u. Mc. HENRY, 1936, IWORSCHKY u. LOCHE, 1951) und Hund (KOBAYASHI u. IVY, 1958).

Gewebe	11	Diaminoxydase-Aktivität mU/g Frischgewicht
Gl. submandibularis	5	0
Gl. parotis	5	0
Leber	5	$0,10 \pm 0,09$
Pankreas	5	$0,10 \pm 0,08$
Milz	5	$0,08 \pm 0,07$
Mesenterial- lymphknoten	5	$3,0 \pm 2,7$
Niere	5	$39,2 \pm 16,5$
Lunge	5	$0,06 \pm 0,06$
Thymus	5	0
Schilddrüse	5	0

Tab. 4:

Diaminoxydase-Aktivität (mU/g Frischgewicht) in ver-
schiedenen Geweben des Hundes

Mittelwert und Standardabweichung von 5 Versuchstieren.

Weitere Bedingungen s. Material und Methodik.

Gewebe	11	Diaminoxidase-Aktivität mÜ/g Frischgewicht
Gl. submandibularis	5	0
Gl. parotis	5	0,14 $\pm$ 0,17
Leber	5	0
Pankreas	5	0,10 $\pm$ 0,13
Milz	5	0,16 $\pm$ 0,07
Mesenterial- lymphknoten	5	9,10 $\pm$ 9,27
Periphere Lymphknoten	5	0,02 $\pm$ 0,01
Niere	5	49,9 $\pm$ 41,1
Lunge	5	0
Thymus	5	0,11 $\pm$ 0,11

Tab. 5:

Diaminoxidase-Aktivität (mÜ/g Frischgewicht) in ver-
schiedenen Geweben des Schweines

Mittelwert und Standardabweichung von 5 Versuchstieren.

Weitere Bedingungen s. Material und Methodik.

Gewebe	Diaminoxydase-Aktivität (mU/g Frischgewicht bzw. ml Plasma)	
Gl. submandibularis	0	
Gl. parotis	0	
Leber	0	
Pankreas	0	
Milz	0	
Mesenteriale Lymphknoten	8,4	$\pm$ 5,3
Periphere Lymphknoten	3,3	$\pm$ 2,9
Niere	0	
Lunge	0	
Herz	0	
Thymus	0	
Plasma (insgesamt)	0,00 - 0,05 (Bereich)	

Tab. 6:

Diaminoxydase-Aktivität in verschiedenen Geweben des Kaninchens

Mittelwerte $\pm$ S.D. von 10 Versuchstieren.

Sonstige Bedingungen siehe Material und Methodik.

Wie zu erwarten, wurde im Duodenum von Mensch, Hund, Schwein und Kaninchen noch eine hohe Diaminoxydase-Aktivität gefunden. Die Aktivität des Enzyms nahm jedoch zum Pylorus hin deutlich ab (Abb. 4). Die Antwort auf die Frage, wie sich die Diaminoxydase-Aktivität im Bereich des Pylorus sowie jenseits der Pylorusgrenze verhält, erschien besonders interessant (Tab. 7).

Die einzelnen Spezies verhielten sich hierin offensichtlich unterschiedlich. Bei Mensch, Schwein und Hund konnte Diaminoxydase-Aktivität über den Pyloruskanal hinaus bis zum Antrum, beim Schwein sogar bis zum Corpus ventriculi nachgewiesen werden. Beim Kaninchen hingegen überschritt die Diaminoxydase-Aktivität die Pylorusgrenze praktisch nicht, d.h. sie war am Pylorus selbst nur noch in Spuren nachweisbar, und in 2 von 5 Mägen fand sich keine Aktivität mehr (Abb. 5 u. 6).

Vor allem bei der letzten Spezies stellte sich die Frage, ob im säureproduzierenden Teil des Magens tatsächlich keine Diaminoxydase-Aktivität mehr nachweisbar ist, oder ob dieses Ergebnis nur einer zu geringen Empfindlichkeit der verwendeten Methode zuzuschreiben ist.

Zur Beantwortung dieser Frage sollte man vor allem den Bereich der Diaminoxydase-Aktivität im Gewebe - weniger Mittelwert und Standardabweichung - betrachten, da dieser die individuellen Werte besser wiedergibt. Dabei fällt auf, daß bei jeder Spezies, sogar beim Schwein, einige Individuen keine Diaminoxydase-Aktivität aufwiesen, obwohl sie bei anderen Individuen deutlich nachweisbar war. Das bedeutet, daß die Aktivität der Diaminoxydase in der Magenschleimhaut offensichtlich in einem weiten Bereich streut. Sie unterscheidet sich nicht nur bei verschiedenen Säugerspezies, sondern auch bei verschiedenen Individuen der gleichen Spezies, und hängt innerhalb eines Individuums wie später beschrieben, auch noch von den pathophysiologischen Gegebenheiten ab.

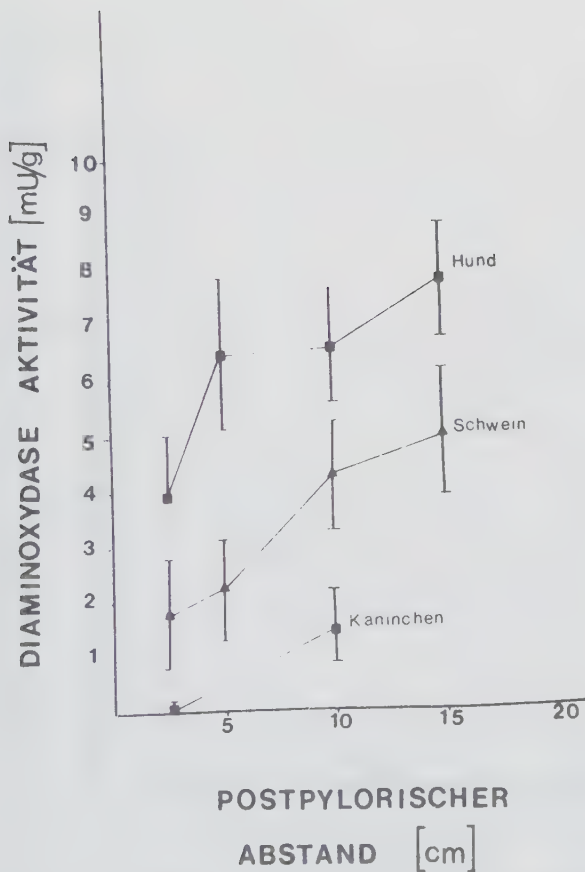


Abb. 4:

Diaminoxidase-Aktivität im Duodenum von Hund, Schwein und Kaninchen

Mittelwert und Standardabweichung.

Bestimmung der Enzym-Aktivität mittels des Isotopen-Tests.

Gewebe	Bereich der Enzymaktivität (mU/g)					
	Hund	Schwein		Kaninchen		Mensch
Prox. Jejunum	6,6 - 50,3	11,6	- 26,0	-/-	0,2	- 26,9
Duodenum	5,6 - 48,0	4,5	- 21,0	0,4 - 2,2	0	- 7,8
	4,4 - 43,1	1,4	- 20,7	-/-	-/-	
Pylorus	0,1 - 3,4	0	- 0,8	0 - 0,05	0,5	- 2,7
Antrum	0 - 2,1	0,4	- 4,9	0 - 0,06	0	- 4,7
Corpus	0 - 1,0	0,4	- 12,1	0 - (0)	0	- 0,1
Fundus	0 - 1,0	0,2	- 5,3	0 - (0)	-/-	

Tab. 7:

Diaminoxidase-Aktivität im Gastrointestinaltrakt des Menschen und verschiedener Säuger

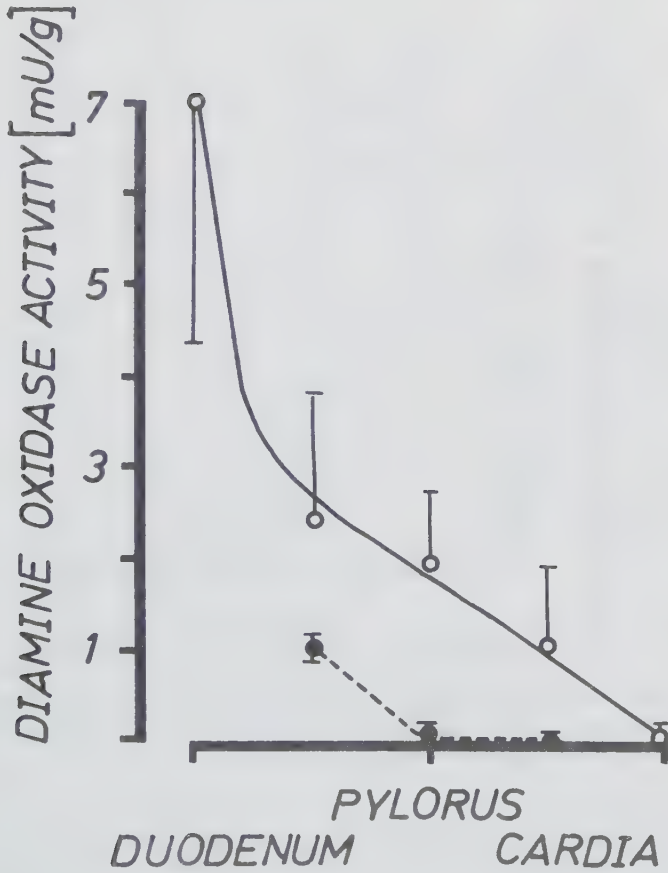


Abb. 5:

Diaminoxidase-Aktivität im Magen und Duodenum von Mensch und Kaninchen

- — ○ Enzymaktivität beim Menschen
● - - ● Enzymaktivität beim Kaninchen

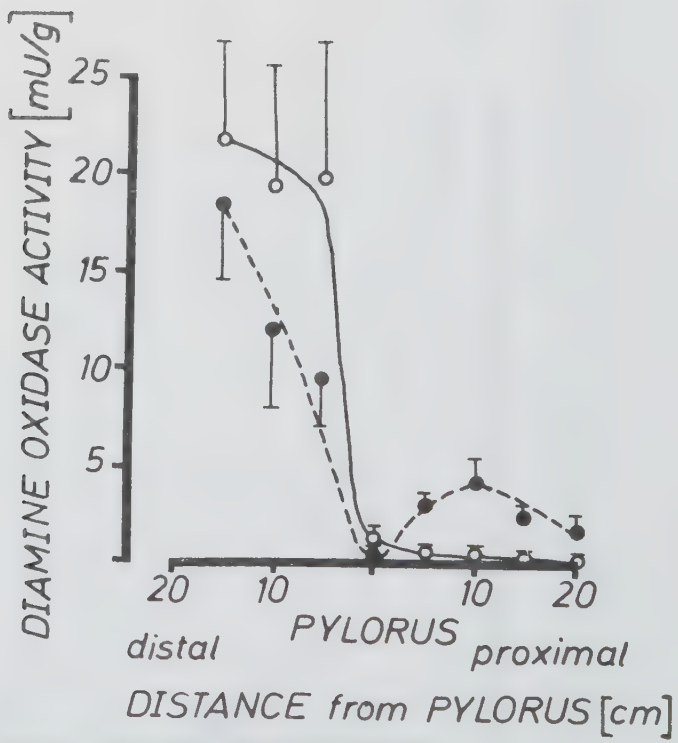


Abb. 6:

Diaminoxidase-Aktivität im Magen und Duodenum von Hund und Schwein



Enzymaktivität beim Schwein



Enzymaktivität beim Hund

4.3. Die Diaminoxydase-Aktivität im Darm bei Mensch, Schwein und Kaninchen

Der Darm, insbesondere der Dünndarm, gehört bei allen bisher untersuchten Säugetierspezies zu den Organen mit der höchsten Diaminoxydase-Aktivität (Tab. 8).

Die höchsten Enzymaktivitäten fanden wir bisher beim Schwein. Das Maximum der Aktivität wurde im unteren Jejunum und oberen Ileum gefunden.

Beim Hund liegt der Diaminoxydase-Gehalt der Darmwand in einer ähnlichen Größenordnung wie beim Schwein. Das Enzym weist beim Hund eine charakteristische Verteilung entlang des Dünndarms auf mit einer Zunahme der Aktivität von den proximalen zu den distalen Darmabschnitten. Da Histamin im Dünndarm des Hundes entgegengesetzt verteilt ist und von proximal nach distal abnimmt (LORENZ), stehen beide Größen zueinander in einer negativen Korrelation mit einem $r = -0,76$ ($p = 0,005$) (RICHTER et al., 1972).

Der Dünndarm von Mensch und Kaninchen weist eine wesentlich geringere Diaminoxydase-Aktivität auf als bei Schwein und Hund gefunden wurden. Das Enzym war jedoch in allen Darmabschnitten einschließlich des Dickdarms deutlich nachweisbar. Eine charakteristische Verteilung des Enzyms konnte bei Mensch und Kaninchen nicht nachgewiesen werden. Beim Menschen ist die Ursache möglicherweise darin zu suchen, daß, anders als bei tierischem Material, die Gewebeproben nicht aus dem Darm eines Individuums entnommen werden konnten und somit die biologische Streuung der Werte das Ergebnis in stärkerem Maße beeinflusste. Zudem wurden die menschlichen Gewebeproben von Patienten entnommen, die wegen Erkrankungen im Abdominalbereich operativ behandelt werden mußten. Daß sich die Diaminoxydase-Aktivität der Darmwand noch weit vom Orte des Insultes entfernt ändern kann, zeigten Untersuchungen über die Ischämie am terminalen Ileum des Hundes (RICHTER, 1973).

Gewebe	n	Mensch	Hund (n = 7)	Kaninchen (n = 6)	Schwein (n = 5)
oberes Jejunum	8	1,9 ± 1,8	9,1 ± 3,1	5,8 ± 3,0	21,6 ± 10,4
unteres Jejunum	3	5,7 ± 2,1	12,3 ± 6,1	7,3 ± 5,3	31,1 ± 9,6
oberes Ileum	8	1,2 ± 1,2	18,5 ± 11,0	4,7 ± 3,0	23,3 ± 9,1
unteres Ileum	11	2,2 ± 0,9	19,2 ± 13,4	3,4 ± 1,9	16,1 ± 5,5
Dickdarm	7	2,3 ± 2,4	19,7 ± 4,2	2,8 ± 2,6	1,9 ± 0,3

Histamingehalt (ug/g Frischgewicht)

oberes Jejunum	3	24,4 ± 14,0	29,3 ± 13,2	3,0 ± 2,0
unteres Jejunum		-	26,2 ± 17,7	-
oberes Ileum	6	16,1 ± 10,9	19,3 ± 17,5	-
unteres Ileum	9	19,2 ± 7,7	17,0 ± 10,0	-

Tab. 8:

Diaminoxidase-Aktivität und Histamingehalt in verschiedenen Dünndarmabschnitten von Mensch, Hund, Kaninchen und Schwein

Mittelwerte ± S.D. - Sonstige Bedingungen siehe Methodik.

Die Werte der Diaminoxidase-Aktivität bei Hund, Kaninchen und Schwein sowie die Histamingehalte sind entnommen aus RICHTER, H. (1974).

4.4. Beispiele für die Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität unter pathologischen Bedingungen beim Menschen

Wenn auch, wie im vorangegangenen Kapitel gezeigt wurde, die einzelnen Spezies stark voneinander abweichende Diaminoxydase-Aktivitäten aufweisen, so kann man doch als Gesetzmäßigkeit feststellen, daß

- 1) der Magen, wenn überhaupt, nur geringe Enzymaktivitäten aufweist,
- 2) die höchsten Enzymaktivitäten im Dünndarm, vor allem im Ileum, erreicht werden und
- 3) im Dickdarm zwar regelmäßig Diaminoxydase-Aktivität zu finden ist, diese aber bei weitem nicht die Aktivitäten im Dünndarm erreicht.

Als Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen konnten wir beim Menschen unter pathophysiologischen Bedingungen ein erhebliches Abweichen von diesem Verteilungsmuster beobachten. So fanden wir zum Beispiel bei einem Patienten mit einem Ulcus ventriculi eine normal niedrige Diaminoxydase-Aktivität in der unveränderten Schleimhaut der dem Ulcus gegenüberliegenden Magenwand. In Ulcusnähe hingegen, wo die Schleimhaut Zeichen einer akuten Entzündung zeigte, fand sich eine mit 2,5 mU/g Gewebe 10mal so hohe Diaminoxydase-Aktivität.

Ganz anders wirkte sich ein Morbus Crohn auf die Diaminoxydase-Aktivität aus. Hier fanden wir im entzündeten Bereich praktisch keine Enzymaktivität mehr, verglichen mit den benachbarten, unveränderten Darmabschnitten (Tab. 9).

Name, Alter u. Diagnose der Patienten	Untersuchtes Gewebe	Diaminoxidase-Aktivität
L.H., 54 J.	<u>Normale Antrumschleimhaut</u>	0,25 mU/g
Praepylorisches Ulcus ventriculi	Entzündliche Schleimhaut in <u>Ulcusnähe</u>	2,5 mU/g
	Schleimhaut des Duodenums	2,9 mU/g
P.U., 36 J.	<u>Normales proximales Ileum</u>	10,3 mU/g
Ileitis terminalis	Entzündliches terminales Ileum	0,2 mU/g
	Colon transversum	6,4 mU/g

Tab. 9:

Der Einfluß von Entzündungsprozessen auf die Diaminoxidase-Aktivität im menschlichen Gastrointestinaltrakt

Diaminoxidase-Aktivität in mU/g Frischgewebe.

Mittelwert aus Doppelbestimmungen.

4.1. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in vitro

4.1.1. Einfluß von (+)-Catechin auf das Testsystem

Um eine Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität in vitro untersuchen zu können, war es zunächst erforderlich, zu überprüfen, ob (+)-Catechin sich den verwendeten Meßsystemen gegenüber neutral verhält, oder ob es eventuell als Störfaktor anzusehen ist. (+)-Catechin wurde in unterschiedlichen Konzentrationen nach 30-minütiger Reaktionszeit der Inkubationsmischung des ^{14}C -Tests zugesetzt. Anschließend erfolgte dann der unter Methodik beschriebene Säurestop der enzymatischen Reaktion sowie die weitere Aufarbeitung. Dabei ergab sich der in Abb. 7 dargestellte Quencheffekt. Das heißt, daß (+)-Catechin in einer Endkonzentration höher als 10^{-6}M im Isotopentest nur dann verwendet werden kann, wenn die durch diese Substanz stark veränderten Zählraten bei der Berechnung der Enzymaktivität mit berücksichtigt werden.

Ein Quencheffekt konnte dagegen niemals beobachtet werden, wenn (+)-Catechin bei Kaninchen intravenös verabreicht wurde. 5 Minuten nach Applikation von 50 mg/kg Körpergewicht wurde den Versuchstieren venöses Blut aus der kontralateralen Vena femoralis entnommen. Im ^{14}C -Putrescin-Test wurden 0,2 ml des Serums dieser Proben einem Inkubationsansatz mit Kontrollenzym zugesetzt. Ein Einfluß auf die Zählrate der Proben mit Kontrollenzym wurde dabei nicht beobachtet.

Der NADH-Test zur Bestimmung von Aminoxydase-Aktivitäten wurde durch (+)-Catechin nicht beeinflusst.

Auf Grund der unterschiedlichen Störanfälligkeit der verwendeten Testsysteme hielten wir es für notwendig, für in vitro-Messungen mit vorgereinigten Enzympräparaten

in Gegenwart von (+)-Catechin mit dem NADH-Test zu arbeiten. Bei den in vivo-Bestimmungen, d.h. nach intravenöser Applikation von (+)-Catechin sowie bei der Verwendung roher Enzympräparate verwendeten wir weiterhin den Isotopentest.

4.5.2. Einfluß von (+)-Catechin auf die Aktivität von Aminoxydasen in vitro

Die Tab. 10 zeigt die Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit von 3 verschiedenen Enzymen durch (+)-Catechin. Für die Diaminoxydase des Dünndarms erwies sich (+)-Catechin als starker Inhibitor ($I.D._{50} = 3 \times 10^{-5}M$). Dieser Befund stand im Gegensatz zu früheren Ergebnissen, die keinen Einfluß von (+)-Catechin auf die Diaminoxydase der Schweineniere feststellen konnten. Die Wiederholung der Untersuchungsreihe mit Diaminoxydase aus Schweineniere bestätigte unsere früheren Ergebnisse, da eine Hemmung des Enzyms von weniger als 20 % durch Konzentrationen von $10^{-3}M$ praktisch keine Bedeutung mehr hat. (+)-Catechin stellt somit wahrscheinlich den ersten Hemmstoff dar, der Diaminoxydasen verschiedener Herkunft unterschiedlich beeinflusst.

Auch die lösliche Monoaminoxydase des Schweinedarms wurde durch (+)-Catechin relativ stark gehemmt ($I.D._{50} = 10^{-4}M$). Da sich die Diaminoxydase aus Kaninchendarm in allen bisher untersuchten Eigenschaften sehr ähnlich verhielt wie die Diaminoxydase aus Schweinedarm, ist ein entsprechender Einfluß von (+)-Catechin auch auf dieses Enzym zu erwarten. Die Enzymuntersuchungen am Kaninchendarm stehen jedoch noch aus.

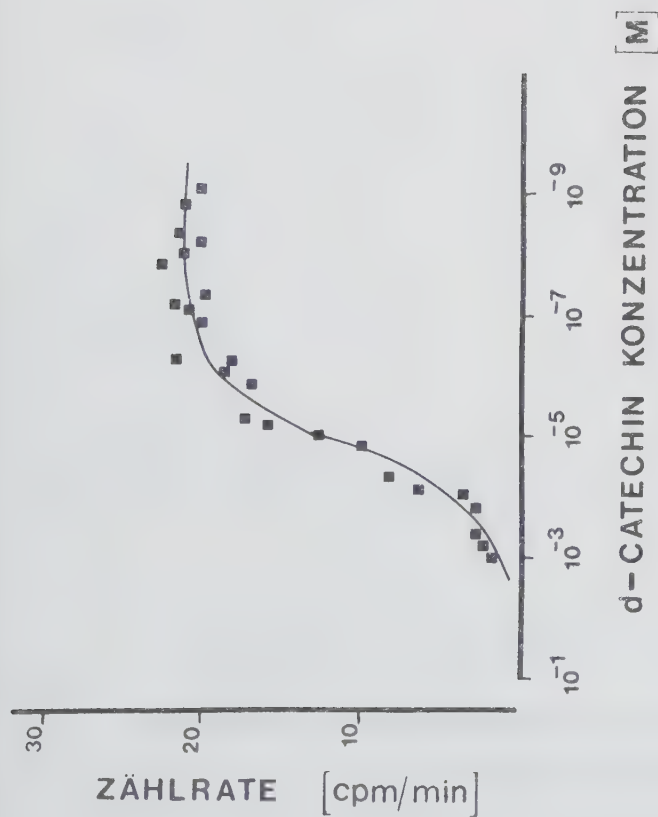


Abb. 7:

Quencheffekt von (+)-Catechin

Abhängigkeit der Zählrate (cpm/min) von der (+)-Catechin-Konzentration (M).

Enzymquelle	Diaminoxidase Substrat: Putrescin (1 mU)	Monoaminoxidase Substrat: Serotonin (1 mM)
Erbsenkeimlinge	9×10^{-2} x	-
Niere:		
Hund	8×10^{-5}	-
Schwein	nicht hemmbar	-
Dünndarm:		
Hund	1×10^{-3} xx	4×10^{-4}
Schwein	3×10^{-5}	1×10^{-4}
Kaninchen	$2,5 \times 10^{-4}$	$8,5 \times 10^{-3}$ x

x : Werte extrapoliert, da die angegebene (+)-Catechin-Konzentration im Ansatz nicht erreicht werden konnte.

xx: gilt auch für Histamin (0,1 mM)

Tab. 10:

Für eine 50 %ige Enzymhemmung (ID_{50}) benötigte
(+)-Catechin-Konzentration (M)

4.6. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in Dünndarm und Plasma

Diese Versuche wurden in vivo an narkotisierten Kaninchen durchgeführt. In einer ersten Untersuchungsreihe testeten wir den Einfluß von (+)-Catechin auf die Diaminoxydase-Aktivität im Plasma und in der Darmwand der Versuchstiere. Im Plasma führte die Verabreichung von 50 mg/kg Körpergewicht (+)-Catechin zu einem initialen Anstieg der Diaminoxydase-Aktivität von $0,02 \pm 0,01$ mU/ml ($n = 5$) auf $0,03 \pm 0,01$ mU/ml ($n = 5$). Im weiteren Verlauf sank die Diaminoxydase-Aktivität unter den Ausgangswert und erreichte in der 60. Minute nach der Injektion ihr Minimum mit $0,01 \pm 0,007$ mU/ml ($n = 5$) ($p < 0,05$ gegenüber dem Maximum der Aktivität) (Abb. 8).

Im Dünndarm führte die intravenöse Verabreichung von (+)-Catechin nur zu geringen Veränderungen der Diaminoxydase-Aktivität, die zu keinem Zeitpunkt signifikant waren (Ausgangswert: $5,1 \pm 4,4$ mU/g; Maximum der Aktivität 5 - 30 Minuten nach der Injektion: $6,0 \pm 2,5$ mU/g; Rückkehr zum Ausgangswert nach 60 Minuten) (Abb. 9).

4.7. Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität und der Histaminkonzentration durch (+)-Catechin im Dünndarm bei akuter Ischämie

Ebenso wie bei der im Kapitel 4.6. beschriebenen Versuchsanordnung - hier wurden die verschiedenen Enzymbestimmungen an jeweils einem Individuum durchgeführt - bewirkte die Verabreichung von (+)-Catechin auch beim Vergleich zweier Gruppen - mit Kochsalz und mit (+)-Catechin behandelte Tiere - einen Anstieg der Diaminoxydase-Aktivität im Plasma der Versuchstiere, der sich als statistisch signifikant erwies ($p < 0,05$). Trotzdem

dürfte diesem Anstieg kaum eine physiologische Bedeutung beizumessen sein, da die gefundenen Enzymaktivitäten immer noch als sehr gering bezeichnet werden müssen.

Während der Zeit des Arteria-mesenterica-superior-Verschlusses kam es zu keiner weiteren Veränderung der Diaminoxydase-Aktivität, und in der Phase der Revaskularisation glichen sich die Werte der (+)-Catechin- und der Kontrollgruppe wieder an. In der Darmwand übte (+)-Catechin keinen Einfluß auf die Aktivität der Diaminoxydase aus. Während der Dauer der intestinalen Ischämie und in der Revaskularisationsphase kam es jedoch in beiden Versuchsgruppen zu einem deutlichen Abfall der Enzymaktivität ($p = 0,05$, Student's t-Test) (Tab. 11), ein Befund, der uns aus früheren Versuchen mit experimenteller Darmischämie bereits gut bekannt war (KUSCHE et al., 1972, KUSCHE et al., 1973).

Ebenso wie in früheren Versuchen wurde trotz einer Verminderung der Diaminoxydase-Aktivität im Darmgewebe kein Anstieg anderenorts, z.B. im Plasma, beobachtet, so daß von einer Freisetzung des Enzyms während einer Darmischämie nicht gesprochen werden kann und der Verbleib des Enzyms noch als unbekannt betrachtet werden muß.

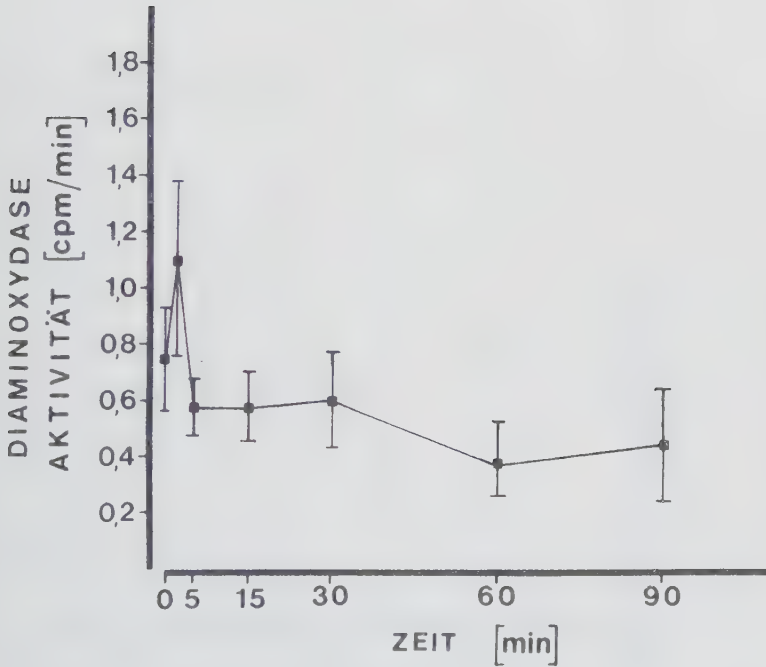


Abb. 8:

Veränderung der Diaminoxidase-Aktivität im Plasma von Kaninchen nach Injektion von (+)-Catechin

$\bar{x} \pm \text{SEM}; n = 5$

Weitere Bedingungen siehe Material und Methodik.

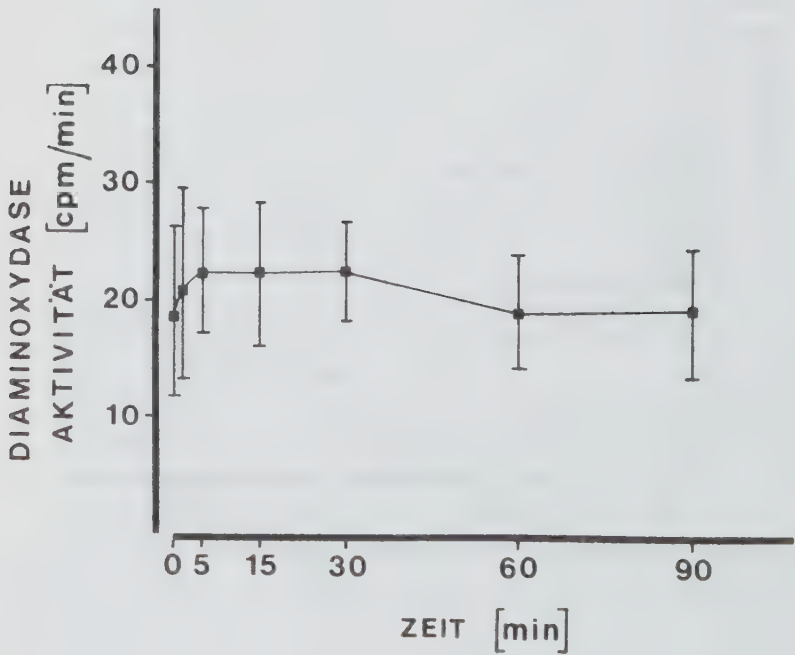


Abb. 9:

Veränderung der Diaminoxidase-Aktivität im Dünndarm von Kaninchen nach Injektion von (+)-Catechin

$\bar{x} \pm \text{SEM}$; $n = 5$

Weitere Bedingungen siehe Material und Methodik.

	n	vor AMS-V	nach 105 Min. AMS-V		10 Min. nach Revaskularisation	
			(+)-Catechin 0,9 % NaCl	(+)-Catechin 0,9 % NaCl	(+)-Catechin 0,9 % NaCl	
Mistamtingehalt des Dünndarmes (ug/g)	10	3,1 ± 2,5	3,0 ± 1,2	3,0 ± 2,2	3,0 ± 2,4	3,5 ± 2,0
Diaminoxydase- Aktivität des Dünndarmes (mU/g)	10	4,39 ± 2,19	4,33 ± 1,65	3,11 ± 1,67	2,44 ± 1,67	2,31 ± 0,4
Diaminoxydase- Aktivität des Plasmas (mU/ml)	10	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02

Tab. 11:

Veränderung von Diaminoxydase-Aktivität und Histaminkonzentration vor, während und nach intestinaler
Ischämie beim Kaninchen

AMS-V = Arteria mesenterica superior-Verschuß

4.5. Beeinflussung von arteriellem Druck, Hämatokrit und Überlebenszeit durch (+)-Catechin bei intestinaler Ischämie

1) Blutdruck

Bei Ausgangswerten des arteriellen Druckes von 95 ± 5 mm Hg sanken die Werte während der Zeit des Arteria mesenterica superior-Verschlusses bei den mit (+)-Catechin behandelten Tieren um 9 % ab gegenüber 2 % bei den mit Kochsalz behandelten Kontrolltieren.

Während der Revaskularisationsphase war entsprechend den ähnlichen Überlebenszeiten beider Versuchsgruppen der Verlauf des arteriellen Druckabfalles bis zum Ende der Versuche gleich.

2) Hämatokrit

Bereits im Ausgangswert des Hämatokrits unterschieden sich die mit (+)-Catechin behandelten Tiere von den Kontrollen, wobei die Werte für die (+)-Catechin-Gruppe niedriger liegen ($p < 0,01$). Dieser Unterschied verwischte sich jedoch während der intestinalen Ischämie. Insgesamt stieg der Hämatokrit während der Zeit des Mesenterialarterien-Verschlusses und der Revaskularisation stetig an ($p < 0,005$, 10 Minuten nach Revaskularisation gegenüber dem Ausgangswert). Ein Anstieg des Hämatokrits beim Hund ist während einer intestinalen Ischämie mehrfach beschrieben worden, da es bei diesen Spezies zum Verlust von Plasma durch die kleinen Darmgefäße kommt. Das Kaninchen soll in dieser Hinsicht weniger empfindlich sein, was jedoch aufgrund des vorgelegten Befundes bezweifelt werden muß.

3) Überlebenszeit

Nach einem 105 Minuten dauernden Verschluß der oberen Mesenterialarterie und anschließender Revaskularisation

überlebten mit (+)-Catechin behandelte Tiere durchschnittlich 39 ± 24 Min., Kontrolltiere 46 ± 29 Min. Ein signifikanter Unterschied der Überlebenszeit der Tiere in den beiden Gruppen war nicht festzustellen (Abb. 10).

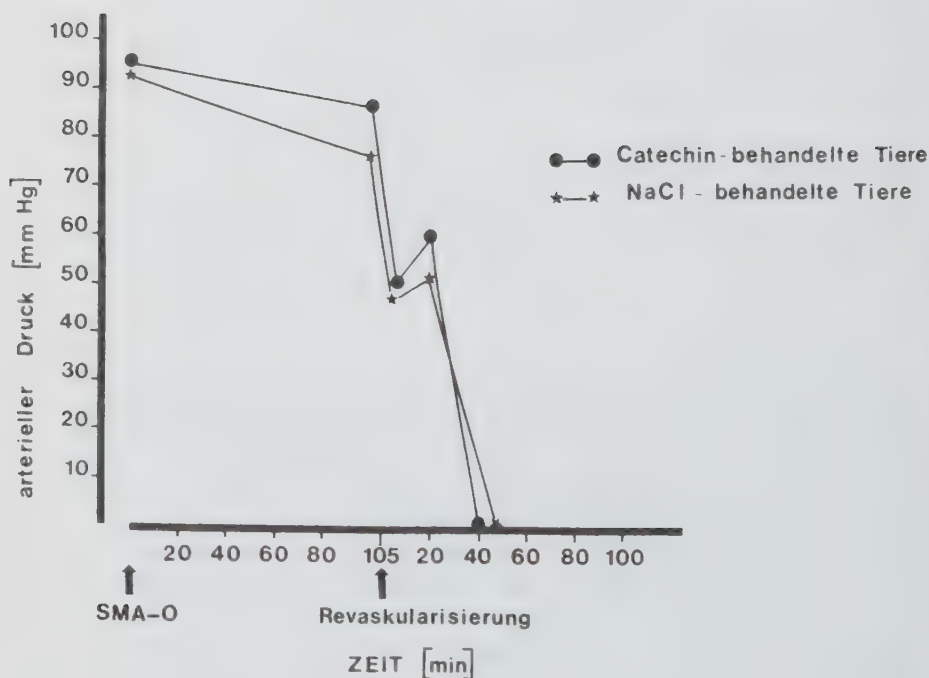


Abb. 10:

Arterieller Blutdruck während und nach intestinaler
Ischämie und Überlebenszeit nach intestinaler Ischämie
bei mit (+)-Catechin behandelten Kaninchen und einer
Kontrollgruppe

5. Diskussion

5.1. Zuverlässigkeit der Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität im Isotopentest

Die Ergebnisse enzymatischer Untersuchungen werden von der Qualität, wie z.B. Empfindlichkeit, Spezifität, Präzision, Richtigkeit der zur Verfügung stehenden Methoden, wesentlich mitbestimmt.

Sowohl für die NADH-Methode als auch für den Isotopentest zur Bestimmung der Diaminoxydase-Aktivität wurden die optimalen Reaktionsbedingungen sowie Empfindlichkeit und Spezifität der Verfahren durch Untersuchungen von LORENZ et al. (1967) sowie von KUSCHE et al. (1973) festgelegt. Die statistische Qualitätskontrolle zur Überwachung der Präzision von Aktivitätsbestimmungen der Diaminoxydase im NADH-Test wurde ebenfalls bereits angewandt (KUSCHE et al., 1973)

Ziel der Anwendung der statistischen Qualitätskontrolle in der vorliegenden Arbeit war es, eine "Produktion" von Meßergebnissen auch über einen längeren Zeitraum unter nachweisbar gleichen Bedingungen zu gewährleisten. Dabei konnte festgestellt werden, daß

- 1) mit Hilfe eines angereicherten stabilen Kontrollenzym die statistische Qualitätskontrolle auf die Aktivitätsbestimmung der Diaminoxydase im Isotopentest leicht anwendbar ist und
- 2) gemessen an der 10 %-Grenze des Variationskoeffizienten, den ein Enzymtest in der klinischen Chemie nicht überschreiten sollte, der Isotopentest eine gute Präzision erzielte. Die gleichzeitige Bestätigung dieses Ergebnisses durch zwei unabhängige Untersucher unterstrich ebenfalls die Zuverlässigkeit des Isotopentestes.

5.2. Die Diaminoxydase-Aktivität bei Mensch, Hund, Schwein und Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Gastrointestinaltraktes

Die Frage, ob Diaminoxydase-Aktivität im Magen von verschiedenen Säugern vorkommt, ist trotz verschiedener Untersuchungen (KOBAYASHI, KUSCHE) bisher noch nicht endgültig beantwortet worden. Aufgrund von zwei Eigenschaften, nämlich seiner hohen Empfindlichkeit und seiner Verwendbarkeit auch in rohen Organpräparationen, erwies sich der Isotopentest mit ^{14}C -Putrescin als sehr geeignet und konnte zur Klärung dieser Frage wesentlich beitragen.

Unter den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Spezies konnte nur beim Kaninchen praktisch keine Diaminoxydase-Aktivität proximal des Pylorus nachgewiesen werden. Dabei ist zu bemerken, daß das Kaninchen sich hinsichtlich der Verteilung der Diaminoxydase in seinem Organismus nicht nur in diesem Punkt von anderen Spezies unterscheidet, da es die Besonderheit hat, ausschließlich im Darm dieses Enzym aufzuweisen (RICHTER et al., 1972), nicht jedoch, wie häufig zu finden, in Milz, Leber, Lunge oder Niere.

Bei Mensch, Hund und Schwein ließ sich Diaminoxydase-Aktivität in der Magenschleimhaut, wenn auch in unterschiedlicher Höhe, nachweisen. Bei allen drei Spezies nahm die Aktivität des Enzyms vom Pylorus nach proximal zu ab, wobei sich die Werte im Corpusbereich dem Nullpunkt näherten.

Distal des Pylorus fand sich bei allen vier Spezies ein starker Anstieg der Diaminoxydase-Aktivität. Verfolgt man die Enzym-Aktivität von der Cardia an nach distal, so zeigt es sich, daß die ersten Spuren der Enzym-Aktivität im Corpusbereich des Magens zu finden sind. Nach distal

nimmt die Enzymaktivität beständig zu über den Pylorus hinaus, entlang des gesamten Duodenums, und erreicht - jetzt wieder unterschiedlich bei den einzelnen Spezies - im Bereich des unteren Jejunums oder des Ileums ihre höchste Aktivität im Gastrointestinaltrakt.

Der Dickdarm schließlich zeigt eine weit geringere Diaminoxidase-Aktivität als der Dünndarm.

In diesem Zusammenhang scheint es interessant, zu fragen, ob diese auffällige Verteilung der Diaminoxidase-Aktivität entlang des Gastrointestinaltraktes einen nur biochemisch faßbaren Parameter darstellt, oder ob sich dieser Parameter auch mit morphologischen Elementen, z.B. dem Auftreten oder Verschwinden eines bestimmten Zelltyps, korrelieren läßt.

5.3. Die Hemmung verschiedener Aminoxydasen in vitro

Die erste Klassifizierung verschiedener Aminoxydasen orientierte sich an dem vom jeweiligen Enzym bevorzugt abgebauten Substrat, z.B. Monoamin-Oxydase, Diamin-Oxydasen, Benzylamin-Oxydasen, usw. (ZELLER, 1940). In dieses System geriet jedoch schon bald Verwirrung, da einerseits langkettige aliphatische Diamine z.B. nur durch Monoaminoxidase umgesetzt werden, andererseits Enzyme, die typische Diamine wie 1,5-Diaminopentan (Cadaverin) desaminierten, auch Monoaminoxidase-Substrate wie Mescaline, angriffen.

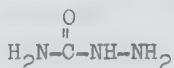
Aus diesem Grunde schlug BLASCHKO (1959) eine Einteilung der Aminoxydasen aufgrund ihrer Inhibitorspezifität vor.

Er unterschied zwei Gruppen:

- 1) Aminoxydasen, die von Carbonylreagentien nicht beeinflusst werden (z.B. die klassische Monoaminoxidase)

2) Aminooxydasen, die durch Carbonylreagentien gehemmt werden (z.B. die klassische Diaminooxydase).

ZELLER (1959) schloß sich dieser Klassifizierung an, beschränkte aber die Differenzierung der beiden Gruppen auf die Beeinflußbarkeit durch das Carbonylreagenz Semicarbazid.



Semicarbazid

Semicarbazid stellt zwar einen wichtigen, aber längst nicht den einzigen und auch nicht den spezifischsten Hemmstoff dar, der zur Unterscheidung verschiedener Aminooxydasen verwendet werden könnte. So wird die Monoaminooxydase kompetitiv gehemmt durch Pheniprazin (HITELOCK), Iproniacid (KAPELLER, ADLER, 1970), Isocarboxazid, Pargylin (FULLER) und Harmatin, wobei die beiden letztgenannten Substanzen als hochspezifische Hemmstoffe angesehen werden. Nicht kompetitive Hemmstoffe der Monoaminooxydase sind Propanidin, Methylenblau und Äthylalkohol.

Die wichtigsten Hemmstoffe der Diaminooxydase sind Hydroxylamin (BUFFONI, 1966), Hydrazin, Isoniazid, das bereits genannte Semicarbazid und Aminoguanidin (SCHULER, 1955), das zur Zeit als der spezifischste Diaminooxydasehemmer betrachtet wird. Iproniacid hemmt sowohl Monoaminooxydase als auch Diaminooxydasen, alle übrigen aufgeführten Inhibitoren wirken nur auf eine Gruppe von Aminooxydasen.

Die Wirkung von (+)-Catechin auf die Aktivität verschiedener Aminooxydasen scheint sich von der Wirkung bisher bekannter Aminooxydasen-Hemmstoffe in einigen Punkten zu unterscheiden. Frühere Untersuchungen kamen zu dem Ergebnis, daß (+)-Catechin die Wirkung der Diaminooxydase (Histaminase) nicht beeinflußt (BEILER, LORENZ). Dieses Ergebnis wurde für die Diaminooxydase aus Erbsenkeimlingen und

aus der Schweineniere bestätigt. Daß dieses Ergebnis davon abhängen kann, von welcher Spezies - bei gleicher Organquelle - die jeweilige Diaminoxydase gewonnen wurde, zeigt die Hemmung des Enzyms aus Hundeniere durch (+)-Catechin.

Die intestinalen Diaminoxydasen der drei untersuchten Spezies Schwein, Hund und Kaninchen werden, ebenso wie die im Dünndarm vorkommende lösliche Monoaminoxydase, durch (+)-Catechin gehemmt. Dabei ist allerdings zu bemerken, daß bei der jeweiligen Spezies die Diaminoxydase rund 10mal empfindlicher auf (+)-Catechin reagierte als die Monoaminoxydase. (+)-Catechin stellt somit neben Iproniacid einen Hemmstoff dar, der sowohl auf Monoaminoxydasen als auch auf Diaminoxydasen wirkt. Darüber hinaus scheint (+)-Catechin der bisher einzige Hemmstoff zu sein, der auf Diaminoxydasen unterschiedlich wirkt, mit dessen Anwendung sich folglich die Hypothese stützen ließe, daß Diaminoxydasen verschiedener Herkunft nicht als das gleiche Enzym, sondern als Isoenzyme zu betrachten sind.

5.4. Die Beeinflussung der Diaminoxydase-Aktivität durch (+)-Catechin in vivo

Nachdem die in vitro durchgeführten Untersuchungen die Hemmung der intestinalen Diaminoxydase durch (+)-Catechin gesichert hatten, sollte als letzter Schritt der Nachweis dieses Effektes auch in vivo erfolgen. Wir benutzten dazu das von RICHTER und Mitarbeitern verwendete Modell der experimentellen intestinalen Ischämie am Kaninchen. Bei diesem Modell bewirkte die Anwendung des spezifischen Diaminoxydase-Hemmstoffes Aminoguanidin eine hochsignifikante Verkürzung der Überlebenszeit der Tiere, bedingt durch einen Ausfall der Schutzwirkung des Enzyms. Eine ähnliche Wirkung wurde auch von (+)-Catechin erwartet,

das ja auch als Diaminoxydase-Hemmstoff betrachtet werden mußte.

Überraschenderweise erwies sich (+)-Catechin in vivo jedoch keineswegs als Hemmstoff der Diaminoxydase, es kam im Gegenteil im Plasma der Kaninchen, sowohl unter der Darmischämie als auch bei normalen Kaninchen, zu einem Anstieg der Enzymaktivität. Da dieser Anstieg der Diaminoxydase-Aktivität im Plasma begleitet war von einem, wenn auch nicht signifikanten, Anstieg der Enzymaktivität in der Darmschleimhaut, kann eine Liberierung des Enzyms aus diesem einzigen diaminoxydasehaltigen Organ dieser Spezies mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Eine in vivo erfolgte Aktivierung des Enzyms durch (+)-Catechin, oder wahrscheinlicher durch Produkte, die aus (+)-Catechin entstanden sind, käme dagegen in Frage.

Von seiten der Pharmakokinetik und des Umsatzes von (+)-Catechin im Organismus her läßt es sich nicht ausschließen, daß die Substanz tatsächlich rasch aus dem Organismus verschwindet (GRIFFITH, 1964), oder auch umgesetzt wird (DOS u. GRIFFITH, 1969). Eigene Untersuchungen lassen möglicherweise an eine rasche Kompartimentierung von (+)-Catechin denken. Wie in Kap. 4.5. beschrieben, bewirkt (+)-Catechin im Isotopentest mit ^{14}C -Putrescin einen starken Quench. Wurde nun die Substanz in einer Dosierung von 100 mg/kg Kaninchen i.v. appliziert und 10 Minuten danach eine Blutprobe entnommen, so zeigte das aus dieser Probe gewonnene Serum keinerlei Quencheffekt, wenn es dem Isotopentest zugesetzt wurde. Das heißt, bis auf nicht erfaßbar kleine Mengen mußte (+)-Catechin während dieser 10 Minuten den Kreislauf verlassen haben.

Als weitere Wirkungen von (+)-Catechin sind noch in Betracht zu ziehen

- 1) eine Verminderung der Gefäßwandpermeabilität, kenntlich an einer Erniedrigung des Hämatokritwertes, be-

dingt durch einen verminderten Flüssigkeitsabstrom aus dem Gefäßbett,

- 2) eine mögliche Hemmung der Histidindecaboxylase, so daß die Symptome eines eventuellen Anstiegs der Histaminkonzentration durch den Ausfall der inaktivierenden Diaminoxydase durch eine verminderte Neubildung des Amins verwischt werden könnten.

Bei der notwendigerweise vorsichtigen Interpretation von Befunden, die auf so vielfältigen Wirkungen beruhen, wie sie durch (+)-Catechin hervorgebracht werden, ist hier festzustellen, daß die in vitro gesicherte Hemmung der Diaminoxydase durch (+)-Catechin aufgrund der mangelnden Spezifität des Hemmstoffes am gewählten Versuchsmodell in vivo nicht die erwarteten Auswirkungen hatte.

5. Zusammenfassung

- 1.) Diaminoxydase, ein Histamin oxydativ desaminierendes Enzym, wurde mittels des Isotopentests mit ^{14}C -Putrescin als Substrat unter optimierten und standardisierten Bedingungen bestimmt.
- 2.) Die statistische Qualitätskontrolle mit Hilfe eines stabilen Kontrollenzyms ergab eine gute Präzision des Isotopentests, gemessen an der 10 %-Grenze des Variationskoeffizienten.
- 3.) Diaminoxydase wurde bei allen untersuchten Spezies im Darm, jedoch in unterschiedlicher Aktivität, nachgewiesen. Die Enzymaktivität nahm dabei im oberen Gastrointestinaltrakt von proximal nach distal zu.
- 4.) Bei Schwein und Hund wurde Diaminoxydase-Aktivität in geringer Menge im Magen nachgewiesen. Die Enzymaktivität nahm auch hier von proximal nach distal zu. Beim Kaninchen konnte im Magen keine Diaminoxydase-Aktivität nachgewiesen werden.
- 5.) Beim Menschen wurde Diaminoxydase-Aktivität im Darm und in geringer Menge auch im Magen gefunden.
- 6.) (+)-Catechin bewirkte in vitro eine starke Hemmung der intestinalen Diaminoxydase ($\text{ID}_{50} \ 3 \times 10^{-5}\text{M}$) sowie der löslichen intestinalen Monoaminooxydase aus Schweinedarm. Die Diaminoxydase der Nieren verschiedener Spezies wurde unterschiedlich beeinflusst.
- 7.) In vivo zeigte (+)-Catechin nur einen geringen Einfluß auf den Diaminoxydasegehalt von Darm und Plasma von Kaninchen. Möglicherweise wird (+)-Catechin sehr schnell aus dem Kreislauf eliminiert. Die Überlebenszeit von Tieren mit temporärem Arteria mesenterica-Verschluß wurde, im Gegensatz zur Verwendung des spezifischen Diaminoxydase-Hemmstoffs Aminoguanidin, durch Gabe von (+)-Catechin nicht verkürzt.

Literaturverzeichnis

ARGENTU-CERU, M.P., SARTONI, C., ANTUORI, F.:

Diamine oxidase in rabbit liver

Eur. J. Biochem. 34, 368 - 382 (1973)

BEILER, J.M., BRENDDEL, R., GRAFF, M., MARTIN, G.J.:

Effect of Vitamine P compounds on Choline Acetylase

Arch. Biochem. 26, 72 - 76 (1950)

BEILER, J.M., MARTIN, G.J.:

Inhibitory action of Vitamine P compounds on
Hyaluronidase

J. Biol. Chem. 171, 507 - 511 (1947)

BEILER, J.M., MARTIN, G.J.:

Inhibition of Hyaluronidase action by derivatives of
Hesperidin

J. Biol. Chem. 174, 31 - 35 (1948)

BEILER, J.M., MARTIN, G.J.:

The inhibition of Xanthine oxydase by Flavonoids
and related compounds

J. Biol. Chem. 192, 831 - 834 (1951)

BERGMAYER, H.:

Methoden der enzymatischen Analysen

2. ed Verlag Chemie (1970)

BEST, C.H., Mc HENRY, E.W.:

The inactivation of Histamine

J. Physiol. 70, 349 (1930)

BLASCHKO, H., FRIEDMANN, P.J., HAWES, R., NIELSON, N.:

The amine oxidases of mammalian plasma
J. Physiol. 145, 384 - 404 (1959)

BÖHM, K.:

Die Flavonoide

Editio Cantor KG, Aulendorff/Württ. (1967)

BOVET, D., BOVET-NITTI, F.:

Médicaments du système nerveux végétatif
S. Karger, Basel (1948)

BROWN, D.D., TOMCHICK, R., AXELROD, R.:

The distribution and properties of a histamine-methylating
enzyme
J. Biol. Chem. 234, 2948 - 2950 (1959)

BÜSING, K.H.:

Hyaluronidasehemmung als Wirkungsmechanismus einiger
therapeutisch nutzbarer Naturstoffe
Arzneim.-Forsch. 5, 320 - 322 (1955)

BUFFONI, F.:

Histaminase and related Amine Oxidases
Pharmac. Reviews 18, 1163 - 1199 (1966)

BURKARD, W.:

Contribution à l'étude de l'histamine
Foulon, R., Paris (1954)

BURTON, A.C.:

Physiologie und Biophysik des Kreislaufs
Schattauer Verlag Stuttgart - New York (1969)

CAVALLI-SFORZA, L.:

Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik
G. Fischer-Verlag Stuttgart (1972)

COTZIAS, G.C., DOLE, V.P.:

The activity of histamine in tissues
J. Biol. Chem. 196, 235 - 242 (1952)

DANFORTH, D.N., GORHAM, F.:

Placental histaminase
Amer. J. Physiol. 119, 294 - 295 (1937)

ELSTER, S.K.:

Failure of Rutin to Inhibit Hyaluronidase in the Albino Rat
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 71, 15 - 18 (1949)

GLANZMANN, Ch., GLANZMANN-ZAPEL, I.:

Histaminfreisetzung beim Kaninchen durch Heparin, andere
Polyanionen und Protamin
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 268, 434 - 445 (1971)

GOLDSTEIN, A., ARONOW, L., KALMAN, S.M.:

Principles of drug action
The base of pharmacology
Harper u. Row, Publishers, New York, Evanston and London
(1969)

GRIFFITH, L.A.:

Identification of the metabolites of (+)-Catechin in
rat urine
Biochem. 92, 173 (1964)

HANO, ., OKA, M.:

Zitiert aus: K. Böhm, Die Flavonoide

Proc. Jap. Pharm. Soc. Annual meeting 32, Tokyo, March, 1959

HANO, K., OKA, M.:

Zitiert aus: K. Böhm, Die Flavonoide

Proc. Pharm. Soc., Regional meeting 18, Nagoya, Nov. 1959

HÜBNER, K.A.:

Zitiert aus: K. Böhm, Die Flavonoide

Z. exp. Med. 124, 289 (1954)

KAPELLER-ADLER, R.:

The isolation of imidazole acetaldehyde as the only metabolite of the action in vitro of placental histaminase on histamine

Biochem. Biophys. Acta 37, 527 - 565 (1960)

KAPELLER-ADLER, R.:

Amine oxidases and methods for their study

Verlag Wiley-Interscience (1970)

KELANTEI, B., FOLDES, J.:

Studies on the Hämato-Encephalic Barrier

Acta physiol. (Budapest) 5, 139 - 148 (1954)

KOBAYASHI, Y, IVY, A.C.:

Histamine metabolizing activity of dog stomach and intestine

Amer. J. Physiol. 195, 525 - 527 (1958)

KOBAYASHI, Y, IVY, A.C.:

Histamine metabolizing activity of the stomach and intestine of the rat

Amer. J. Physiol. 196, 835 - 836 (1959)

KUSCHE, J., RICHTER, H., HESTERBERG, R., SCHMIDT, J.,
LORENZ, W.:

Comparison of the ¹⁴C-Putrescine-Assay with the NADH-Test
for the determination of diaminoxidase. Description of a
standard procedure with a high precision and an improved
accuracy

Agents and actions 3, 148 - 156 (1973)

KUSCHE, J., RICHTER, H., SCHMIDT, J., HESTERBERG, R.,
FRIEDRICH, A., LORENZ, W.:

Diamine oxidase in Rabbit Small Intestine:

Separation from a Soluble Monoamine Oxidase, Properties
and Pathophysiological Significance in Intestinal Ischemia
Agents and actions 5, 431 - 439 (1975)

KUSCHE, J., STAHLKNECHT, C.D., LORENZ, W., REICHERT, G.,
RICHTER, H.:

Diamine oxydase and intestinal ischemia

Agents and actions, in press (1977)

LEVITAN, B.A.:

Rutin in histamineshock

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 68, 569 - 571 (1948)

LINDELL, S.E., WESTLING, H.:

Potentation by histamine inhibitors of the blood pressure
responses to histamine in cats

Acta physiol. Scand. 37, 307 - 323 (1956)

LORENZ, W., BARTH, H., KUSCHE, J., REIMANN, H.J., SCHMAL, A.,
MATEIJKA, E., MATHIAS, Ch., HUTZEL, M., WERLE, E.:

Histamine in the pig: Determination, distribution, release
and pharmacological actions

Europ. J. Pharmac. 14, 155 - 175 (1971)

LORENZ, W., BENESCH, L., BARTH, H., MATEIJKA, E.,
MEYER, E., KUSCHE, J., HUTZEL, M., WERLE, E.:

Fluorometric assay of histamine in tissues and body fluids,
choice of the purification procedure and identification of
the nanogram range

Z. Analyt. Chem. 252, 94 - 98 (1970)

LORENZ, W., FEIFEL, G.:

Neue Gesichtspunkte zur Pathogenese des Streß- und
Steroidulcus

Deutsche Med. Wschr. 95, 1848 - 1850 (1970)

LORENZ, W., FEIFEL, G., SCHMAL, A., HUTZEL, M., WERLE, E.:

Zum Mechanismus der Sekretionsstimulierung und Blutdruck-
senkung durch Histalog (Betazol^R): Histaminliberierung und
Potenzierung der Wirkung von Kininen und Serotonin

Klin. Wschr. 48, 314 (1970)

LORENZ, W., MATEIJKA, E., SCHMAL, A., SEIDEL, W.,
REIMANN, H.J., UHLIG, R., MANN, G.:

A phylogenetic study of the occurrence and distribution of
histamine in the gastro-intestinal tract and other tissues
of man and various animals

Comp. gen. Pharmac. 4, 229 - 250 (1973)

LORENZ, W., KUSCHE, J., HAHN, H., WERLE, E.:

Determination of activity of diaminoxidases, urease and
histidine-ammonia-lyase by enzymatic assay of ammonia

Z. Analyt. Chem. 243, 259 - 263 (1968)

LORENZ, W., KUSCHE, J., BARTH, H., MATHIAS, Ch.:

Action of several flavonoids on enzymes of histamine
metabolism in vitro

(Sattelits Symposium August 1974, Łódź, Poland)

In: Cz. Mąśliński, Histamine, Dowden, Hutchinson u. Ross,
Stroudsburg, Pennsylvania, 265 - 269 (1973)

LORENZ, W., KUSCHE, J., WERLE, E.:

Über eine neue Methode zur Bestimmung der Diaminoxidase-Aktivität

Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 348, 561 - 567 (1967)

LORENZ, W., REIMANN, H.J., BARTH, H., KUSCHE, J., MEYER, R., DOENICKE, A., HUTZEL, M.:

A sensitive and specific method for the determination of histamine in human whole blood and plasma

Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 352, 911 - 920 (1972)

LORENZ, W., REIMANN, H.J., KUSCHE, J., BARTH, H., SCHMAL, A., NUSIME, H., SCHÜLLE, G., FRÖHLICH, G., SCHMIDT, J., RAABE, K.:

Effects of (+)-Catechin on several enzymes of histamine metabolism and on stress ulcer formation in the female rat
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmac. Suppl. 287, 62 (1975)

LORENZ, W., WERLE, E.:

Vorkommen, Verteilung und subzelluläre Lokalisation von Histamin im menschlichen, tierischen und pflanzlichen Organismus

International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics
Ed. Maxwell, Pergamon Press Oxford

LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J.:

Protein measurement with the folin Phenolreagent

J. Biol. Chem. 193, 265 - 275 (1951)

MALKIEL, S., WERLE, M.D.:

D-Catechol and Antihistaminogenesis

Science 114, 98 (1951)

MARTIN, G.J., GRAFF, M., BRENDEN, R., BEILER, J.M.:

Effect of Vitamine P compounds on the action of
Histidine Decarboxylase

Arch. Biochem. 21, 177 - 180 (1949)

MOSS, J.M., BEILER, J.M., MARTIN, G.J.:

Inhibition of anaphylaxis in guinea pig by d-Catechin
Science 112, 16 (1950)

MÜLLER, F., SEIFERT, O.:

Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik
Verlag J.F. Bergmann, 69. Aufl., München (1966)

OKUYAMA, T., KOBAYASHI, Y.:

Determination of diamine oxidase activity by liquid
scintillation counting

Arch. Biochem. Biophys. 95, 242 - 250 (1961)

OZAWA, H.J.:

Pharmacological and Chemical Studies on Rutin-like
Compounds

Pharm. Soc. Japon 71, 1191 (1951)

PRESTON, R.K., AVAKIAN, S., BEILER, J.M., MOSS, J.M.,
MARTIN, G.J.:

In vivo and in vitro Inhibition of Hyaluronidase by
Organic Phosphates

Exp. Med. Surg. 11, 1 (1953)

RICHTER, H.:

Diaminoxidase im Dünndarm von Mensch, Hund und Kaninchen:
Frage einer protektiven Rolle bei akuter intestinaler
Ischämie

Habilitationsschrift 1974

RICHTER, H., KUSCHE, J., SCHUMANN, K.Th., SCHMIDT, J.,
LORENZ, W.:

Diamine oxidase and histamine in the small intestine
after experimental ischemia
Brit. J. Surg. 59, 912 (1972)

RICHTER, H., KUSCHE, J., SCHMIDT, J., LORENZ, W.:

Diaminoxidase, Histamin und Histidin im Dünndarm nach
experimenteller Ischämie
Langenbecks Arch. Chir. Supp. Chir. forum 295 - 298 (1973)

RICHTER, H., HESTERBERG, R. and LORENZ, W.:

The Role of Humoral Factors and Diamine Oxidase Activity
in Shock after Intestinal Ischemia in Rabbits
Brit. J. Surg. 60, 904 (1973)

RODNEY, G., SWANSON, A.L., WHEELER, L.M., SHITH, G.N.,
WORRELL, C.S.:

The effect of an series of Flavonoids on Hyaluronidase
and some other related enzymes
J. Biol. Chem. 183, 739 (1950)

ROSS, B.D.:

Perfusion techniques in biochemistry. A laboratory manual
in the use of the isolated perfused organs in biochemical
experimentation
Clarendon Press, Oxford, 356 - 394 (1972)

SCHULER, W., MEIER, R.:

Vergleich der aminooxydasehemmenden und der blutdruck-
senkenden Wirkung von Hydrazinophthalazinen
Helv. physiol. et pharmac. 13, 106 - 113 (1955)

SHEWART, W.A.:

Economic control of Quality of manufactured Product
D. van Nostrand Co. New York (1931)

SHORE, P.A., BURHALTER, A., COHN, V.H.:

A method for the fluorometric assay of histamine in tissues
J. Pharmacol. exp. Ther. 127, 182 - 186 (1959)

SJAASTADT, O.V.:

Potentation by Aminoguanidin of the sensivity of sheep to
histamine given by mouth. Effect of Aminoguanidine on the
urinary excretion of endogenous histamine
Quart. J. exp. Physiol. 52, 319 (1967)

SJAASTADT, O.V., STORMORKEN, H.:

Diet and histamine in the ruminant
Nature, London, 197, 907 - 908 (1963)

URI, J., KOROSSY, S., SZEPLAKI, S.Z.:

Die Wirkung von pflanzlichen Farbstoffen auf die Dehydro-
genasen des musculus pectoralis der Taube
Vitamin-Hormon-Ferment-Forschung 1, 137 - 141 (1947)

VALETTE, G., COHEN, Y., BURKARD, W.:

Repartition de l'histaminase dans differents organes de
certaines animaux
Pharm. Acta Helv. 31, 382 - 390 (1956)

WATON, N.G.:

Studies on mammalian histidine-decarboxylase
British J. Pharmacol. 11, 119 - 127 (1956)

WEICHSELBAUM, T.E.:

Protein determination by the biuret method
Amer. J. Clin. Path. 10, 40 - 46 (1946)

WERLE, E.:

Zur Kenntnis der Histidindecaboxylase und der Histaminase
Biochem. Z. 304, 201 (1940)

WERLE, E., LORENZ, W.:

Histamin und Histidindecaboxylase in Speicheldrüsen
und Magengewebe

Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 338, 251 - 259 (1964)

WHITELOCK, O.v.S.:

Amine oxidase inhibitors

The New York Academy of Sciences (1959)

WILLIAM, V.R., HIROMS, J.M.:

Zitiert aus: K. Böhm, Die Flavonoide

Biochem. Biophys. Acta 139, 214 (1967)

ZELLER, A.E., BLANKSMA, L.A., BURKARD, W.P., PACHA, W.L.,
LATANAS, J.C.:

In vitro and in vivo inhibition of amine oxidase

Ann. N.Y. Acad. Science 80, 583 - 589 (1959)

ZELLER, A.E.:

Zur Kenntnis der Diaminoxidase. 3. Mitteilung über den
enzymatischen Abbau von Polyaminen

Helv. chem. Acta 21, 1645 - 1652 (1938a)

ZELLER, A.E.:

Über den enzymatischen Abbau von Histamin und Diaminen

Helv. chem. Acta 21, 880 - 890 (1938b)

ZELLER, A.E.:

Über die Beeinflussung der Diaminoxidase durch Kaliumcyanid

Helv. chem. Acta 25, 1418 - 1441 (1940)

ZELLER, A.E.:

Oxidation of amines, in: The enzymes chemistry and mechanism ad action

Edited by J.B. Sumner and K. Myrback, Vol. II, Part 1, 536 - 558, Acad. Press, Inc. New York (1951)

Lebenslauf

Am 25.5.1951 wurde ich als erstes Kind des Forstbeamten Oskar Friedrich und seiner Ehefrau Paula, geb. Meyer, in Lutzerath, Kreis Berncastel geboren. Ich habe noch drei Geschwister. Nach dem Umzug meiner Familie nach Saarburg besuchte ich von 1957 bis 1961 die katholische St.-Marien-Volksschule in Saarburg-Beurig. Von 1961 bis 1969 war ich Schülerin des Staatlichen Neusprachlichen Gymnasiums in Saarburg, hier legte ich im Juni 1969 die Reifeprüfung ab.

Das Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1969/70 an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken und Homburg/Saar. 1970 legte ich das Vorphysikum ab, das Physikum bestand ich 1972. Ab dem Sommersemester 1973 setzte ich das Studium dann in Marburg/Lahn fort, wo ich im Juni 1975 das Staatsexamen bestand.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich an der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg und an der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses in Saarburg ab. Im Juli 1976 erhielt ich die Approbation als Ärztin. Ich war dann noch bis Februar 1977 als Assistenzärztin an der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Saarburg tätig, seit dem 1. März 1977 arbeite ich als wissenschaftliche Assistentin an der Zentralen Abteilung für Anästhesie der Universitätskliniken in Kiel und strebe die Facharztausbildung als Arzt für Anästhesie an.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten

in Saarbrücken und Homburg

Allert, Altmann, Berger, Bette, Booz, Broeren, Dembowski,
Dhom, Ehrich, Eistert, Fritsche, Gräser, Haas, Harbauer,
Hofmann, Hollmann, Hutschenreuther, Keller, Kotter, Kulen-
kampff, Leonhardt, Licht, Limburg, Loew, Lüdecke, Meiser,
Meyer, Mohn, Müser, Muth, Nascimiento, Neunhoeffter, Ober-
hausen, Partsch, Rindt, Schlegel, Schneider, Schweiberer,
Seelinger, Specht, Trendelenburg, Ueberberg, von Fragstein,
Wagner, Weinheimer, Werth, Wolfart, Wolff, Wulff, Zimmer-
mann, Zoch

in Marburg

Arndt, Barthelmai, Bode, Buchholz, Büsing, Busch, Dittrich,
Dombrowsky, Exner, Friederich, Ganz, Gerdes, Gössel, Graul,
Grundner, Hamelmann, Hamm, Havemann, Hennis, Hering, Heß,
Hilgermann, Huch, Kalbfleisch, Karl, Klaus, Klein, Klein-
sasser, Knauff, Koransky, Krück, Lauer, Linneweh, Maroske,
Martini, Mühlberger, Nesswetha, Neurath, Niemeyer, Oepen,
Rodeck, Rohen, Schaumlöffel, Schleyer, Schmid, Schmitz-
Moormann, Seidel, Siegert, Siemer, Thoenes, Willenbockel

Herrn Prof. Dr. W. Lorenz danke ich für die Themenstellung, zahlreiche Anregungen und die freundliche Durchsicht des Textes.

Herrn Priv.-Doz. Dr. J. Kusche danke ich ganz besonders für die Anleitung und zahlreiche Verbesserungsvorschläge während des experimentellen Teils der Arbeit sowie für die freundliche Unterstützung bei der Zusammenstellung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Richter danke ich für die Hilfe bei der Durchführung des experimentell-chirurgischen Teils der Arbeit.

Frl. J. Schmidt danke ich für die freundliche Unterstützung bei den labor-chemischen Arbeiten.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich für die stete Hilfsbereitschaft und das freundliche Entgegenkommen während meiner Tätigkeit ganz herzlich bedanken.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Die Wirkung von (+)-Catechin auf die oxydative Desaminierung von Histamin in vivo und in vitro" im Institut für Experimentelle Chirurgie und Pathologische Biochemie Marburg/Lahn unter Leitung von Herrn Prof. Dr. W. Lorenz ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

